

T.C
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TİBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

TEZ KONUSU

POSTMENOPAZAL KADINLARDA KEMİK MİNERAL
YOĞUNLUĞU İLE ÖSTROJEN RESEPTÖR ALFA VE
KOLLAJEN TİP I ALFA 1 GEN POLİMORFİZMLERİNİN
İLİŞKİSİ

DOKTORA TEZİ

MÜJGAN ÖZDEMİR ERDOĞAN

DANIŞMAN

PROF.DR. SEVİLHAN ARTAN

2. DANIŞMAN

PROF. DR. MUSTAFA SOLAK

EKİM - 2008

T.C
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TİBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

TEZ KONUSU

POSTMENOPAZAL KADINLARDA KEMİK MİNERAL
YOĞUNLUĞU İLE ÖSTROJEN RESEPTÖR ALFA VE
KOLLAJEN TİP I ALFA 1 GEN POLİMORFİZMLERİNİN
İLİŞKİSİ

DOKTORA TEZİ

MÜJGAN ÖZDEMİR ERDOĞAN

DANIŞMAN

PROF. DR. SEVİLHAN ARTAN

2. DANIŞMAN

PROF. DR. MUSTAFA SOLAK

Bu tez alıŐması Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Komisyonu tarafından 06.TIP.28 no'lu proje ile desteklenmiŐtir.

KABUL VE ONAY SAYFASI

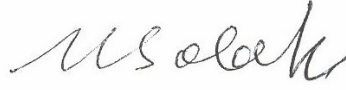
Müjgan ÖZDEMİR ERDOĞAN'ın Doktora Tezi olarak hazırladığı "*Postmenopozal Kadınlarda Kemik Mineral Yoğunluğu ile Östrojen Reseptör Alfa ve Kollajen Tip I Alfa I Gen Polimorfizmlerinin İlişkisi*" başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek "KABUL" edilmiştir.

07.10.2008


Üye: Prof.Dr. Sevilhan ARTAN



Üye: Prof.Dr. Mustafa SOLAK



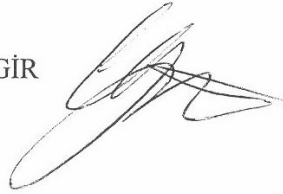
Üye: Doç.Dr. Funda TAŞÇIOĞLU



Üye: Doç.Dr. M.Hamza MÜSLÜMANOĞLU



Üye: Yrd.Doç.Dr. Oğuz ÇİLİNGİR



Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 15./10./2008 tarih ve 762./3532. sayılı kararı ile onaylanmıştır.


Prof.Dr.Ferruh YÜCEL
Enstitü Müdürü

ÖZET

Osteoporoz, kemik mineral yoğunluğunun (KMY) azalması ve kemik dokunun mikromimari yapısının bozulması ile karakterize multifaktöriyel bir hastalıktır. Kemik mineral yoğunluğunu etkileyen birçok çevresel faktör olmasına rağmen son yıllarda yapılan çalışmalarda genetik yapının osteoporoz patogenezindeki etkisi üzerinde durulmuştur. Kemik kütlesi üzerine etkisi olan birçok aday genin varlığı rapor edilmiştir. Ancak bu genlerin kemik kütlesi üzerine olan etkisi ile birbirleri ve çevresel etkenlerle olan etkileşimleri halen net değildir.

Bu çalışmada, 126 postmenopozal kadında (kemik mineral yoğunluğu açısından 30 normal, 46 osteopenik ve 50 osteoporotik) lomber omurga ve femur boynu KMY değerleri ile *ERα* geni PvuII, XbaI polimorfizmleri ve *COL1A1* geni Sp1 polimorfizmi arasındaki ilişki araştırılmıştır. Ayrıca çalışmamızda bu polimorfizmlere ait genotip ve alel frekanslarının normal, osteopenik ve osteoporotik olgulardaki dağılımı incelenmiştir.

Çalışma sonuçlarımıza göre *ERα* geni PvuII polimorfizmi, pp genotip frekansı açısından normal olgular ile osteopenik ve osteoporotik olgular arasında anlamlı fark bulundu. pp genotip frekansı, normal olgularda anlamlı düzeyde düşüktü. Yine *ERα* geni PvuII polimorfizmine ait P ve p alel frekansları değerlendirildiğinde osteoporotik olguların p alel frekansı normal olgulardan anlamlı düzeyde yüksekti. PP genotipine sahip olguların lomber omurga ortalama KMY değeri, pp genotipli olguların lomber omurga ortalama KMY değerinden anlamlı düzeyde yüksekti. Diğer taraftan *ERα* geni XbaI polimorfizmi ile *COL1A1* geni Sp1 polimorfizminde yapılan değerlendirmelerde gruplar arasında KMY değerleri, genotip ve alel frekansları açısından fark bulunmadı. Sonuç olarak, çalışma grubumuzdaki postmenopozal kadınlarda lomber omurga KMY değeri üzerine *ERα* geni PvuII polimorfizminin etkili olduğu gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Osteoporoz, *ERα* geni, PvuII, XbaI, *COL1A1* geni, Sp1, polimorfizm

SUMMARY

Osteoporosis is a multifactorial disease characterized by a decrease in bone mineral density (BMD) and micro-architectural deterioration of bone structure. Although there are several environmental influences on BMD, a genetic contribution to the pathogenesis of osteoporosis has recently been recognized. The existence of many candidate genes which have effect on bone mass was reported. However, the effect of these genes' on bone mass, the interaction among these genes and interaction among these genes and environmental effects are not presently clear.

In this study, the relationship among BMD values of lumbar vertebra and femoral neck, and *ERα* gene PvuII, XbaI polymorphisms and *COL1A1* gene Sp1 polymorphism in 126 postmenopausal women (30 normal, 46 osteopenic and 50 osteoporotic in terms of bone mineral density) was researched. Besides, the distribution of genotype and allele frequencies belonging to these polymorphisms in normal, osteopenic and osteoporotic postmenopausal women was also evaluated in this study.

According to our study results, significant difference was found in among normal women, and osteopenic and osteoporotic women in terms of *ERα* gene PvuII polymorphism pp genotype frequency. pp genotype frequency was significantly lower in normal women. When P and p allele frequencies belonging to *ERα* gene PvuII polymorphism were evaluated, it was observed that p allele frequency of osteoporotic women was significantly higher than that of normal women. Lumbar vertebra average BMD value of women with PP genotype was significantly higher than that of with pp genotype. On the other hand, in the evaluations on *ERα* gene XbaI polymorphism and *COL1A1* gene Sp1 polymorphism, it was noted that there was no difference in terms of BMD values, genotype and allele frequencies among groups. In conclusion, it was designated that *ERα* gene PvuII polymorphism was effective on lumbar vertebra BMD value in postmenopausal women of our study group.

Key Words: Osteoporosis, *ERα* gene, PvuII, XbaI, *COL1A1* gene, Sp1, polymorphism

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET	v
SUMMARY	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vii
ŞEKİL DİZİNİ.....	ix
TABLO DİZİNİ.....	x
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kemik Doku	3
2.1.1. Yapısı ve Organizasyonu	3
2.1.1.1. Organik Matriks.....	3
2.1.1.2. Kemiğin Mineral Yapısı	4
2.1.1.3. Kemik Hücreleri	4
2.1.2. Kemiğin Yapılanması ve Yeniden Yapılanması	5
2.1.2.1. Kemiğin Yapılanması	5
2.1.2.2. Kemiğin Yeniden Yapılanması	5
2.2. Osteoporoz.....	6
2.2.1. Tanımı ve Sınıflandırılması.....	6
2.2.1.1. Primer Osteoporoz	7
2.2.1.2. Sekonder Osteoporoz	10
2.2.2. Epidemiyolojisi.....	10
2.2.3. Tanısı.....	11
2.2.3.1. Kemik Mineral Yoğunluğu (KMY) ve Ölçümü.....	11
2.2.4. Patogenez	13
2.2.5. Risk Faktörleri	14
2.2.5.1. Genetik Faktörler	14
2.3. Östrojen.....	16
2.3.1. Östrojen Reseptörü	17
2.3.1.1. Östrojen Reseptör Alfa (<i>ERα</i>) Geni.....	19
2.4. Tip I Kollajen	20
2.4.1. Kollajen Tip I Alfa 1 (<i>COL1A1</i>) Geni	22
2.5. Polimorfizm.....	23
2.6. Restriksiyon Fragmentinin Uzunluk Polimorfizmleri	24
2.7. Eş Zamanlı PCR Yöntemi	25
2.7.1. LightCycler Sistemi	28
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	30
3.1. Gereçler.....	30
3.1.1. Materyal Seçimi.....	30
3.1.2. Kullanılan Cihazlar	32
3.1.3. Kullanılan Kimyasallar	33

3.2. Yöntemler.....	33
3.2.1. DNA İzolasyonu	34
3.2.2. <i>ERα</i> Geni PvuII ve XbaI Polimorfizmlerinin PCR-RFLP Yöntemiyle Belirlenmesi	35
3.2.2.1. İzole Edilen DNA Örneklerinin PCR İle Amplifikasyonu	35
3.2.2.2. Amplifikasyon Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezi İle İncelenmesi	37
3.2.2.3. <i>ERα</i> Geni İntron I Bölgesinin PvuII Restriksiyon Enzimi İle Kesimi.	37
3.2.2.4. <i>ERα</i> Geni İntron I Bölgesinin XbaI Restriksiyon Enzimi İle Kesimi	38
3.2.2.5. Enzim Kesim Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezinde Değerlendirilmesi.....	38
3.2.2.6. <i>ERα</i> Geni İntron I Bölgesinin PvuII Restriksiyon Enzimi İle Kesim Sonucunun Değerlendirilmesi.....	39
3.2.2.7. <i>ERα</i> Geni İntron I Bölgesinin XbaI Restriksiyon Enzimi İle Kesim Sonucunun Değerlendirilmesi.....	39
3.2.3. <i>COL1A1</i> Geni Sp1 Polimorfizminin Eş Zamanlı PCR Yöntemiyle Belirlenmesi	40
3.2.3.1.Reaksiyon Karışımının Hazırlanması ve Örneklerin LightCycler Cihazına Yüklenmesi	41
3.3.Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi.....	45
4. BULGULAR	47
4.1. <i>ERα</i> Geni PvuII Polimorfizminin Genotip ve Alel Frekansı	47
4.2. <i>ERα</i> Geni XbaI Polimorfizminin Genotip ve Alel Frekansı	49
4.3. <i>COL1A1</i> Geni Sp1 Polimorfizminin Genotip ve Alel Frekansı	50
4.4. <i>ERα</i> Geni PvuII ve XbaI Polimorfizmlerinin Kemik Mineral Yoğunluk Ölçümü ve Diğer Değişkenler Üzerindeki Etkisi.....	53
4.5. <i>COL1A1</i> Geni Sp1 Polimorfizminin Kemik Mineral Yoğunluk Ölçümü ve Diğer Değişkenler Üzerindeki Etkisi.....	55
5. TARTIŞMA.....	56
5.1. <i>ERα</i> Geni PvuII ve XbaI Polimorfizmleri İle Osteoporoz Arasındaki İlişki ...	56
5.2. <i>COL1A1</i> Geni Sp1 Polimorfizmi İle Osteoporoz Arasındaki İlişki	62
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	67
7. KAYNAKLAR.....	68
ÖZGEÇMİŞ.....	74

SEKİL DİZİNİ

Şekil 2.2.1.1.1: Östrojen eksikliğinin kemik yıkımı ve kalsiyum emilimi üzerine etkisi.....	9
Şekil 2.2.5.1.1: Osteoporotik kırık riskinde genetik etkenler ve çevresel faktörlerin etkileşimi.....	15
Şekil 2.3.1.1: ER α and ER β proteinlerinin yapısı ve fonksiyonel domainleri	18
Şekil 2.3.1.2: ER tarafından gen transaktivasyonunun mekanizması.....	19
Şekil 2.3.1.1.1: İnsan ER α geninin genomik organizasyonu	20
Şekil 2.4.1: Tip I kollajenin sentezi.	22
Şekil 2.4.1.1: Tip I kollajen pro α 1(I) zinciri ve COL1A1 geninin yapısı.....	23
Şekil 2.7.1. Eş zamanlı PCR yönteminde yaygın kullanılan boya ve prob türleri	27
Şekil 2.7.1.1. LightCycler sisteminde hibridizasyon problemleri kullanılarak elde edilen floresan erime eğrisi pikleri.	28
Şekil 3.2.2.2.1: ER α geni intron I bölgesi amplifikasyon ürünleri	37
Şekil 3.2.2.6.1: PCR ile amplifiye edilen örneklerin ER α geni PvuII polimorfizminin belirlenmesi.....	39
Şekil 3.2.2.7.1: PCR ile amplifiye edilen örneklerin ER α geni XbaI polimorfizminin belirlenmesi.....	40
Şekil 3.2.3.1.1: COL1A1 geni Sp1 polimorfizmine ilişkin genotiplerin erime eğrisi analizi	45
Şekil 4.1.1: Normal, osteopenik ve osteoporotik olgu gruplarında genotip frekanslarının dağılımı	52

TABLO DİZİNİ

Tablo 2.2.1.1: Farklı kriterlere göre osteoporoz sınıflandırması.....	7
Tablo 2.2.1.2: Osteoporoz sınıflaması.....	8
Tablo 2.2.1.1.1: Tip I ve II osteoporozun karşılaştırılması.....	10
Tablo 2.2.3.1.1: Kemik mineral yoğunluğu ölçüm yöntemleri.....	12
Tablo 2.2.5.1.1: Bazı osteoporoz aday genleri ve kromozomal lokalizasyonları	16
Tablo 4.1: Olguların demografik özellikleri	47
Tablo 4.1.1: Normal, osteopenik ve osteoporotik olgu gruplarında genotip frekanslarının dağılımı	51
Tablo 4.1.2: Normal, osteopenik ve osteoporotik olgu gruplarında pp genotip frekanslarının dağılımı	52
Tablo 4.1.3: Normal ve osteopenik olgu gruplarında alel frekanslarının dağılımı	53
Tablo 4.1.4: Normal ve osteoporotik olgu gruplarında alel frekanslarının dağılımı..	53
Tablo 4.4.1: <i>ERα</i> geni PvuII polimorfizmi genotiplerine göre olguların yaş, boy, VKİ, femur boynu KMY ve lomber omurga KMY değerlerinin dağılımı	54
Tablo 4.4.2: <i>ERα</i> geni XbaI polimorfizmi genotiplerine göre olguların yaş, boy, VKİ, femur boynu KMY ve lomber omurga KMY değerlerinin dağılımı	54
Tablo 4.5.1: <i>COL1A1</i> geni Sp1 polimorfizmi genotiplerine göre olguların yaş, boy, VKİ, femur boynu KMY ve lomber omurga KMY değerlerinin dağılımı	55
Tablo 5.1.1. Ükelere göre postmenopozal kadın olgulardaki <i>ERα</i> geni PvuII ve XbaI genotip frekanslarının dağılımı.....	60
Tablo 5.1.2 Ükelere göre postmenopozal kadın olgulardaki <i>COL1A1</i> geni Sp1 genotip frekanslarının dağılımı.....	64

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simge	Açıklama
%	Yüzde
°C	Santigrad derece
µl	Mikrolitre
Kb	Kilobaz
bç	Baz çifti
kDa	Kilodalton
dk	Dakika
sn	Saniye
SD	Standart Sapma
IQR	İnterkuartil Aralık
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
TBE	Tris borat EDTA
DNA	Deoksiribonükleik asit
KMY	Kemik Mineral Yoğunluğu
PTH	Paratiroid Hormon
SPA	Tek Foton Absorbsiyometri
DPA	Çift Foton Absorbsiyometri
SXA	Tek Enerjili X Işını Absorbsiyometrisi
DEXA	Çift Enerjili X Işını Absorbsiyometrisi
OI	Osteogenezis İmperfekta
VKİ	Vücut Kitle İndeksi
ER α	Östrojen Reseptör Alfa
ER β	Östrojen Reseptör Beta
COL1A1	Kollajen Tip I Alfa 1
COL1A2	Kollajen Tip I Alfa 2
VDR	Vitamin D Reseptörü
DBD	DNA'ya Bağlanan Domain
HBD	Hormon Bağlayan Domain
AF-1	Aktivasyon Fonksiyon -1
AF-2	Aktivasyon Fonksiyon -2
ERE	Estrogen Responce Element
Gly	Glisin
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

1. GİRİŞ VE AMAC

Osteoporoz, kemik kütlesinde azalma, kemik dokusunda mikroyapısal bozulma ile karakterize ve buna bağlı olarak kemik kırılabilirliğinde artış ile kırık oluşumu eğilimine yol açan sistemik bir kemik hastalığıdır (20). Osteoporoz karmaşık bir etiyojolojiye sahip olup, genetik etkenlerin hormonal, çevresel ve besinsel faktörlerle biçimlendiği multifaktöriyel bir hastalıktır (29).

Günümüzde osteoporozun, önemli ve önemi gün geçtikçe artan sağlık problemlerinden biri olduğu düşünülmektedir. Populasyonun artan yaşam süresinden dolayı kadınlar ve erkeklerde osteoporotik örneklerin sayısının büyük sağlık problemleri ile birlikte gelecekte artacağı düşünülmektedir. Bu nedenle, osteoporozun engellenmesi ve tedavisi tüm ülkelerdeki sağlık organizasyonları için çok önemlidir (28).

Kemik kuvveti ve osteoporotik kırık riskinin major belirleyicisi kemik mineral yoğunluğu (KMY)'dur (94). Günümüzde osteoporozun erken tanısı, kırık riskinin tahminine imkan veren KMY ölçümleri ile konulmaktadır. Ancak KMY ölçüm yöntemlerinin çeşitli dezavantajları nedeniyle, osteoporotik ya da osteoporoz riski taşıyan bireylerin belirlenmesinde alternatif yaklaşımlar gündeme gelmiştir. Bu yaklaşımlardan biri de moleküler genetik yöntemlerinin osteoporozun erken tanısı için diğer tanı yöntemleri ile birlikte kullanımınıdır.

Moleküler genetik alanındaki ilerlemeler sonucunda osteoporozun genetik temelini daha iyi anlaşılabilirliği ve osteoporoz gelişiminde önemli olduğu düşünülen aday genlerin ve bu genlere ait polimorfizmlerin belirlenmesi mümkün olmuştur. Bu aday genlerden biri olan östrojen reseptör alfa ($ER\alpha$) geni kromozom 6q25-27'de lokalize olup 140 kb uzunluğundadır (32). $ER\alpha$ geni, nükleer reseptör süper ailesine ait ve ligand-aktiviteli transkripsiyon faktörü olan östrojen reseptör alfa'yı kodlamaktadır. $ER\alpha$, kemikte östrojenin etki etmesine aracılık eden başlıca reseptör olup, kemik turnoverının düzenlenmesinde ve kemik kütlesinin korunmasında önemli bir etkiye sahiptir (29). Bu nedenle, $ER\alpha$ 'yı kodlayan gendeki

polimorfizmler ile KMY değerleri arasındaki ilişkinin belirlenmesine yönelik çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Yapılan bazı çalışmalarda, *ERα* geni PvuII ve XbaI polimorfizmleri ile KMY arasında ilişki bulunurken, bazılarında ilişki bulunmamıştır (4, 70).

Bir diğer aday gen olan kollajen tip I alfa 1 (*COL1A1*) geni kromozom 17q21-22'de lokalize olup, 18 kb uzunluğundadır (51). *COL1A1* geni, tip I kollajenin α1(I) zincirini kodlamaktadır (18). Yapılan bazı çalışmalarda *COL1A1* geni Sp1 polimorfizmi ile KMY arasında ilişki bulunmuştur (24, 91). Fakat bu ilişki tüm populasyon çalışmalarında gözlenmemiştir (5, 37)

Bugüne kadar çeşitli populasyonlarda *ERα* ve *COL1A1* gen polimorfizmleri ile KMY arasındaki ilişkiyi araştırmak için yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bu nedenle, bu konuya ilişkin daha birçok araştırma yapılarak bu polimorfizmlerin KMY zerine olan etkilerinin daha iyi anlaşılması mümkün olacaktır. Nitekim yapılan literatür taramasında ülkemizde de osteoporoz aday genlerinden bir kısmı (*VDR*, *CTR*, *TGF-β1*, *COL1A1*) ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır (47, 86, 95).

Bu tez çalışmasında, postmenopozal kadınlarda lomber omurga ve femur boynu kemik mineral yoğunlukları ile *ERα* geni PvuII, XbaI polimorfizmleri ve *COL1A1* geni Sp1 polimorfizmleri arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır. *ERα* geni PvuII, XbaI ve *COL1A1* geni Sp1 polimorfizmlerinin birlikte değerlendirildiği ilk çalışma özelliğini taşıyan bu çalışmanın verileri, bu polimorfizmlerle KMY arasındaki ilişki açısından ülkemiz populasyonuna ilişkin yeni bilgilerin elde edilmesini sağlayacaktır. Ayrıca alışmamızda eş zamanlı PCR yöntemi ilk kez *COL1A1* geni Sp1 polimorfizmine ait genotipleme çalışması için kullanılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kemik Doku

Kemik doku, yetişkin iskeletinin en önemli yapı taşını oluşturur. İki tip kemik vardır. Bunlar:

- a) Trabeküler (kansellöz -gevşek)
- b) Kortikal (kompakt -sert, sıkı) kemik şeklindedir.

Kortikal kemik mekanik ve koruyucu bir fonksiyon üstlenirken, trabeküler kemik metabolik fonksiyondan sorumludur. Toplam iskelet kütlelerinin %80'i kortikal kemikten oluşmaktadır. Bu yapı kemiğe sertlik kazandırır. Trabeküler kemik ise tüm kemik kütlelerinin %20'sini oluşturur. Sünger görünümündedir. Bu görünümü ile kortikal kemiğe güç ve elastisite sağlar. Trabeküler kemik oldukça geniş bir yüzeye sahiptir ve kemiğin metabolik olarak en aktif kısmıdır. Osteoporozun trabeküler bölgelerde daha fazla ve erken meydana gelmesinin nedenlerinden biri de bu aktivitedir (3, 6).

2.1.1. Yapısı ve Organizasyonu

Kemik dokusu, ağırlığının %70'ini minerallerin, %5-8'ini suyun, geri kalanını da organik matriksin ve kemik hücrelerinin oluşturduğu özel bir bağ dokusudur (30, 88). Mineral kısmının %95'i spesifik bir kristal olan hidroksiapatit; organik matriksin %90'ı tip I kollajen, geri kalanı da nonkollajen proteinlerden oluşmaktadır (88).

2.1.1.1. Organik Matriks

Kemiğin organik matriksi kemiğin yapılanması ve yeniden yapılanmasının belirleyicisidir. Kemiğe mekanik ve biyokimyasal özelliklerini verir. Kemik matriksinin %90'ı tip I kollajenden, %10'u ise nonkollajen proteinlerden meydana gelmektedir (88).

2.1.1.2. Kemiğin Mineral Yapısı

Kemik doku esansiyel minerallerin bir deposunu sağlar. Kemiğin en önemli inorganik bileşeni kemik kütlesinin %70'ini oluşturur ve vücut kalsiyumunun %98'ini depolayan çözünmeyen bir kristal olan hidroksiapatitten oluşur. Bu mineral başlangıçta organik matrikste kalsiyum fosfat tuzları şeklinde depolanır ve daha sonra apatit kristallerine dönüştürülür. Kemik apatiti saf halde olmayıp içeriğinde değişen miktarlarda karbonat, magnezyum, florür, sodyum ve potasyum bulunur. Nitekim vücut fosforunun %85'i, sodyum ve magnezyumunun %40-60'ı kemik kristallerinde bulunur. Bu mineraller, kemik yıkımı sürecinde kemik matriksinden serbest bırakılır ve kemik mineralizasyonu esnasında kemik matriksine katılır (6, 88).

2.1.1.3. Kemik Hücreleri

Kemik hücreleri osteosit, osteoblast ve osteoklastlardır.

Osteositler

Osteoblastlar mineralize matriks içinde kaldıklarında fonksiyonları ve morfolojik özellikleri değişir ve osteosit adını alırlar. Osteositler kemik hücreleri içinde sayıları en fazla olan hücrelerdir. Kortikal kemik maddesinin içinde, lakuna olarak adlandırılan küçük boşluklarda yer alır. Lakunalar kanaliküller olarak adlandırılan bir kanallar ağı ile birbirlerine bağlıdır. Oksijen ve besinler osteositlere bu kanallar aracılığı ile ulaşır. Osteositlerin yeni kemik matriksini sentezleyebildikleri gösterilmiştir (3, 6).

Osteoblastlar

Osteoblastlar, mezenşimal orijinli osteoprogenitör hücrelerden kaynaklanırlar. Matriks içeriğinin üretiminden sorumlu hücreler olup, tip I kollajen sentezleme ve mineralizasyonu düzenleme yetenekleri vardır (3).

Osteoklastlar

Osteoklastlar, kemik rezorpsiyonundan sorumlu çok nukleuslu dev hücrelerdir. Köken aldığı hücre tam bilinmemekle beraber monosit / makrofaj ailesinin bir üyesidir (3).

2.1.2. Kemiğin Yapılanması ve Yeniden Yapılanması

Kemik, yapılanma ve yeniden yapılanma adı verilen iki işlem sonucu sürekli bir döngü durumundadır. Yapılanma çocukluk döneminin bir özelliğidir, iskelet büyür ve şekillenir. İskelet büyümesi tamamlanınca döngü esas olarak yeniden yapılanma özelliği gösterir (22).

2.1.2.1. Kemiğin Yapılanması

Kemik yıkım ve yapım olayı hayat boyu devam eder, iskelet dokusunun büyümesi süresince bu işlemler daha hızlı oluşur. Büyüme, metabolik aktivitenin daha çok yapım tarafında kalmasının bir sonucudur. Buna “kemiğin yapılanması” denir. Büyüme sadece gelişen iskelette olur ve büyüme plağı kapanınca durur (3).

Kemik dokusu, osteoblastların salgıladıkları matriksin doğrudan doğruya mineralizasyonu (intramembranöz kemikleşme) veya daha önceden varolan kıkırdak matriks üzerine kemik matriksinin çöküşü (endokondral kemikleşme) ile şekillenir. Her iki yolla da ilk ortaya çıkan kemik dokusu primer (olgunlaşmamış) kemik dokusudur. Primer kemik dokusu geçicidir ve kısa bir süre sonra yerini sekonder (olgun) kemik dokusu alır (3).

2.1.2.2. Kemiğin Yeniden Yapılanması

İskelet gelişimi ve büyümesi intra uterin dönemde başlar (6). Kemiğin yeniden yapılanması büyüme boyunca ve yetişkin hayatında meydana gelen önemli bir süreçtir (100). Yetişkinlerde normal yapının korunması ve kemik üzerine uygulanan

değişik mekanik güçlere kemiğin adapte olabilmesi için kemik dokuda yıkım (rezorpsiyon) ve yapım (formasyon) olayları dengeli bir şekilde devam eder ki buna “kemiğin yeniden yapılanması” denir (3). Kemik yıkan ve yapan hücrelerin yeniden yapılanma sürecinde birlikte çalışmasına ise “coupling olayı” denir (88).

2.2. Osteoporoz

2.2.1. Tanımı ve Sınıflandırılması

İlk kez 19. yüzyıl başlarında osteoporoz kelimesi kullanılmaya başlanmıştır. Bu yıllarda ayrıntılı inceleme teknikleri olmadığından “süngerli, gözenekli kemik” anlamına gelen osteoporoz, radyolojik gözlemlere göre değil, patolojik gözlemlere göre verilmiş bir isim olup bundan sonra bu isim kabul edilmiştir (66).

Gelişmiş ülkelerdeki en yaygın metabolik kemik hastalığı olan osteoporoz; düşük kemik kütlesi ve kemik dokunun mikromimarisinin bozulmasına bağlı olarak kemik kırılabilirliğinin artışı ve non-travmatik kırıklara yatkınlıkla karakterize sistemik bir iskelet hastalığıdır (20).

Osteoblastik kemik yapımı ve osteoklastik kemik yıkımı süreçlerinin hayat boyu devam ettiği kemik, metabolik olarak oldukça aktif bir dokudur. Osteoblast ve osteoklastların etkisiyle normal bir kemik yapının sürdürülmesi sağlanır. Kemik homeostazının kaybı kemik kütlesinin azalmasıyla sonuçlanabilir. Bu durum kemik mineralizasyonunda bir defekte veya osteoporozu yol açar (28).

Osteoporoz farklı kriterler dikkate alınarak sınıflandırılmış ve bu sınıflandırma Tablo 2.2.1.1’de verilmiştir. Osteoporoz, etiyolojisine göre primer ve sekonder olmak üzere iki gruba ayrılır (Tablo 2.2.1.2). Primer osteoporoz grubunda postmenopozal (Tip 1), senil (Tip 2) ve idiyopatik juvenil osteoporoz yer almaktadır. Sekonder osteoporoz ise altta yatan birçok hastalık ya da olaya sekonder olarak gelişmektedir (36).

Tablo 2.2.1.1: Farklı kriterlere göre osteoporoz sınıflandırması

Kriter	Osteoporoz Sınıflandırması
Yaş	Juvenil
	Adult
	Senil
Etiyolojisi	Primer
	Sekonder
Lokalizasyonu	Genel
	Bölgesel
Tutulan kemik dokusu	Trabeküler
	Kortikal
Histolojik görünümü	Hızlı turnoverlı
	Yavaş turnoverlı

2.2.1.1. Primer Osteoporoz

Primer osteoporoz bir hastalığın sonucu olmayıp, kendi içinde üç grupta incelenir. (30).

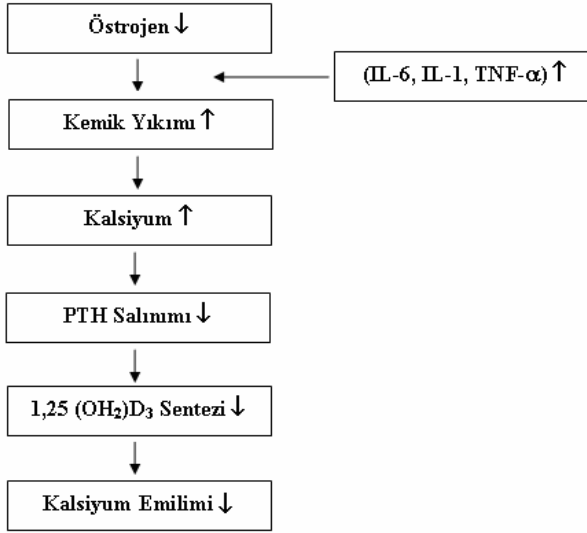
a) Postmenopozal Osteoporoz (Tip I)

Kadınlarda postmenopozal osteoporoz, menopozdan sonra 15-20 yıl içinde görülmektedir. Menopozdan sonra kadınlar östrojen eksikliğine bağlı olarak hızlı bir şekilde trabeküler kemik kaybına uğrarlar. Menopozdan sonraki 5 yıl içinde ortalama yıllık %3 oranında kemik kaybı olduğu kabul edilmektedir. Postmenopozal kadınlarda menopoza girmemiş yaşlarına göre 3 kat daha hızlı trabeküler kemik kaybı görülmektedir, buna karşılık kortikal kemik kaybı hafifçe artmıştır. En önemli klinik bulgular omurga, kalça ve distal ön kol kırıklarıdır. Ayrıca perialveolar kemik kaybının artmasına bağlı diş kaybı da oldukça sık görülür. Kemik kaybının hızı menopoz dönemindeki pik kemik yoğunluğu ve risk faktörlerine göre değişmektedir (87).

Tablo 2.2.1.2: Osteoporoz sınıflaması

I. Primer Osteoporoz	
1. Tip 1 (Postmenopozal)	
2. Tip 2 (Senil)	
3. İdiyopatik Jüvenil Tip	
II. Sekonder Osteoporoz	
1. Endokrin Nedenler	4. Fonksiyonel Nedenler
Cushing Hastalığı	İmmobilizasyon
Addison Hastalığı	5. Beslenme
Hipogonadizm	Kalsiyum Eksikliği
Anoreksia Nervoza	Protein Eksikliği
Hipertiroidi	6. Malign Hastalıklar
Hipotiroidi	Multipl Myelom
Hiperparatiroidizm	Sistemik Mastositozis
Egzersiz Amenoresi	Lenfoma
Diabetes Mellitus	Lösemi
Gebelik	Yaygın Karsinom
2. Gastrointestinal	7. İlaç Kullanımı
Malabsorbsiyon	Kortikosteroidler
Ağır Malnutrisyon	Heparin
Subtotal Gastrektomi	Antikonvülsanlar
Primer Bilier Siroz	İmmüsupresifler
Kronik Tıkaçıcı Sarılık	Alkol
3. Bağ Dokusu	Metotreksat
Romatoid Artrit	8. Kronik Hastalıklar
Osteogenezis İmperfekta	Kronik Böbrek
Ehlers-Danlos Sendromu	Kronik Karaciğer
Marfan Sendromu	KOAH
Homosistinüri	

Östrojenin kemik yıkımına neden olan sitokinleri inhibe ettiği, diğer taraftan da kemik yapımında rolleri olan sitokinleri arttırdığı düşünülmektedir (76). Postmenopozal osteoporozda östrojen hormonunun azalmasına bağlı olarak, kemik yıkımını uyarıcı interlökin-1, interlökin-6 ve tümör nekroz faktör- α seviyesi yükselir. Böylece kemik yıkımı artar ve kanda kalsiyum seviyesi hızla yükselerek idrarla fazla miktarda kalsiyum kaybedilmeye başlar. Kanda artan kalsiyum, paratiroid hormon (PTH) sekresyonunun azalmasına, PTH sekresyonunun azalması da 1,25-(OH) $_2$ D $_3$ yapımının azalmasına neden olur. Azalmış 1,25-(OH) $_2$ D $_3$ nedeniyle kalsiyum emilimi bozulur ve bu durum kemik kaybının artmasına neden olur (30, 39, 60, 88) (Şekil 2.2.1.1.1).



Şekil 2.2.1.1.1: Östrojen eksikliğinin kemik yıkımı ve kalsiyum emilimi üzerine etkisi (Gökçe-Kutsal Y., Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon, 2000'den alınmıştır).

b) Senil Osteoporoz (Tip II)

Yaşla ilişkili kemik kaybı, gözenekli olan kortikal kemik dokunun kaybı ve trabekülaların incilmesi ile sonuçlanan senil osteoporozu sebep olur. Senil osteoporoz, 70 yaş üzerindeki her iki cinsi de etkiler (45). Bu durum, hem trabeküller hem de kortikal kemikleri (özellikle femur boynu) kırıklara yatkın hale getirir (28).

Tip I ve Tip II osteoporoz arasında çakışmalar olmakla birlikte, klinik görünüşleri ve etiopatogenezleri farklıdır (Tablo 2.2.1.1.1).

c) İdiyopatik Jüvenil Tip Osteoporoz

İdiyopatik juvenil tip osteoporoz, tipik olarak puberte öncesinde görülmekle birlikte özellikle hızlı büyüme döneminde olan genç çocuklarda olabilen çok sık görülmeyen klinik bir durumdur. Başlangıç yaşı ortalama 8–14 olan bu osteoporoz formunun en önemli özelliği 2–4 yıl içinde kendiliğinden iyileşme göstermesidir (45).

Tablo 2.2.1.1.1: Tip I ve II osteoporozun karşılaştırılması

	Tip I Osteoporoz	Tip II Osteoporoz
Yaş	51-75	75 yaş üzeri
Kadın : Erkek	6:1	2:1
Tutulan kemik dokusu	Trabeküler	Kortikal + Trabeküler
Kırık lokalizasyonu	Omurga, el bileği	Kalça, pelvis, tibia, humerus üst ucu
Muhtemel etiopatogenez	Östrojen azlığı	Yaşlanma
Kemik kaybı	Hızlı	Yavaş
PTH fonksiyonu	Azalmış	Artmış
Kalsiyum emilimi	Azalmış	Azalmış
Vit. D metabolizması	İkincil azalmış	Birincil azalmış
Temel nedenler	Menopoz ile ilişkili faktörler	Yaşlanma ile ilişkili faktörler

2.2.1.2. Sekonder Osteoporoz

Kemik kaybından sorumlu olabilecek sistemik hastalıkların varlığı, immobilizasyon, zararlı alışkanlıklar veya bazı ilaçlar gibi risk faktörleri nedeniyle oluşan osteoporoz tipidir (28, 30).

2.2.2. Epidemiyolojisi

Günümüzde osteoporoz; artan morbidite, mortalite, bireylerin hastanede bakıma ihtiyaç duymaları ve bağımsız olarak yaşamlarını sürdürememeleri nedeniyle tüm dünyada temel bir sağlık problemi haline gelmiştir. En yaygın klinik sonucu kalça, omurga ve ön kol kırıklarındır (58).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) değerlendirmelerine göre osteoporoz dünyadaki postmenopozal dönemdeki kadınların %30'unu etkileyen bir sağlık sorunudur ve bu sorun kırık oluşması açısından belirgin ölçüde risk artışı yaratmaktadır. Öyle ki kadınlar arasında tüm yaşamları boyunca osteoporozla bağlı kırık meydana gelme riski %40'a yakınken, bu risk erkeklerde %13'tür (94). Yaklaşık olarak tüm kadınların %50'sinin 80 yaşlarında osteoporoz olacağı düşünülmektedir. Aksine 50

yaşındaki beyaz erkekler kalça kırıkları için yaklaşık %6 ve geri kalan yaşamında herhangi bir osteoporotik kırık için %16-25 riske sahiptir (9).

ABD’de yapılan bir çalışmada menopoz öncesinde, omurgadan kemik kaybı yılda %0.2 olarak tespit edilmiştir. Menopozdan sonraki ilk 5 yılda, kadınlarda kemik kaybı oranı %5-10 kat artar ve yaşlı kadınlarda kemik kaybı oranı yıllık %0.75 azalır. Osteoporotik kırıkların sıklığı yaşla birlikte artar ve beyaz ırkta siyah ırka göre daha yüksektir. Beyaz ırktan kadınlarda ülkelere göre değişmekle beraber yaşamları boyunca osteoporoza bağlı en az bir kırık oluşmaktadır ki beyaz ırkta 50 yaşın üzerindeki bir kadının hayatında en az bir majör kırık gelişme riski %50 gibi yüksek bir rakamdır (28, 60).

2.2.3. Tanısı

Osteoporozun tanısında klinik, laboratuvar ve radyolojik bulgular ile KMY ölçümü sonuçları dikkate alınır.

2.2.3.1. Kemik Mineral Yoğunluğu (KMY) ve Ölçümü

Günümüzde iskelet sisteminin farklı bölgelerindeki kemik kütesinin, yoğunluğunun ve mineral içeriğinin ortaya konması için birçok yöntem geliştirilmiştir. Kemik yoğunluğu aslında kemik fizyolojisinin önemli bir göstergesidir. Bu nedenle, kemik mimarisi, geometrisi gibi kemik kırılmasını etkileyebilecek diğer faktörleri göstermemekle birlikte KMY ölçümü kemik kuvveti ve kırık riskini tahmin etmede oldukça faydalı bir yöntemdir (69).

Kemik mineral yoğunluğu ölçümlerinde kullanılan teknikler şunlardır: (Tablo 2.2.3.1.1). Osteoporoz tanısında, KMY ölçümüne dayanan bir sınıflama ilk kez WHO tarafından 1994 yılında geliştirilmiştir. 1996 Dünya Osteoporoz Kongresi’nde (Amsterdam), WHO tanı kriterleri kullanılarak osteoporoz çift enerjili X ışını absorpsiyometrisi (DEXA) ile elde edilen değerlere ve kırık varlığına göre yeniden tanımlanmış ve tüm dünyada bu ortak tanım kullanılmaya başlanmıştır (90, 94). Bu yöntemde, iki karşılaştırma parametresi kullanılmaktadır. Bunlardan Z skorlaması,

ölçüm bölgesinin kemik mineral yoğunluğu değerleri ile aynı yaş ve cinsiyetteki normal populasyonun ortalama değerinin standart sapma (SD) cinsinden hesaplanan miktarı arasındaki farkı gösterir. Yaş ve cinsiyete göre belirlenen ortalama Z değeri sıfırdır. Buna göre bulunan değerler + veya - olabilir.

Tablo 2.2.3.1.1: Kemik mineral yoğunluğu ölçüm yöntemleri

Radyografik Yöntemler
Konvansiyonel radyografiler
Radyografimetri
Fotodansitometri (Radyografik absorbsiyometri)
Tek enerji kantatif kompüterize tomografi
Çift enerji kantatif kompüterize tomografi
Periferik enerji kantatif kompüterize tomografi
Dansitometrik yöntemler
Tek foton absorbsiyometri (SPA)
Çift foton absorbsiyometri (DPA)
Tek enerjili X ışını absorbsiyometrisi (SXA)
Çift enerjili X ışını absorbsiyometrisi (DEXA)
Kompüterize dijital absorbsiyometri
Diğer Tanı Yöntemleri
Kantitatif ultrasonografi
Nötron aktivasyon analizi
Magnetik rezonans görüntüleme
Skening slit fluografi

Diğer karşılaştırma parametresi ise T skorlamasıdır. Bu skorlama 20-35 yaş arası belirli bir cins ve ırktaki normal populasyonun standart sapma (SD) cinsinden değerini yansıtır (16). Bu değerlere göre -2.5 SD'lik bir değer, kırık eşiği olarak kabul edilir ve bu değerlere göre 4 aşamalı bir tanısal sınıflandırma önerilmiştir (94). Buna göre:

Normal: KMY'nin yetişkin ortalamasına göre -1 SD'nin altında olmasıdır (T skoru > -1).

Osteopeni (Düşük Kemik Kütlesi): KMY'nin genç yetişkin ortalamasına göre -1 SD ve -2.5 SD arasında olmasıdır (-1 > T skoru > -2.5).

Osteoporoz: KMY'nin genç yetişkin ortalamasına göre -2.5 SD'nin altında olmasıdır (T skoru < -2.5).

Ciddi (Yerleşmiş) Osteoporoz: KMY'nin genç yetişkin ortalamasına göre -2.5 SD'nin altında olması ve bir veya daha fazla osteoporotik kırık varlığıdır (T skoru < -2.5).

2.2.4. Patogenez

Osteoporozun patogenezinde üç faktör dikkate alınmaktadır. Bunlar:

1. Pik kemik kütlesi,
2. Kemik yapım–yıkım döngüsü (turnover hızı),
3. Kemiğin organik matriksinde meydana gelen değişikliklerdir.

Yetişkinde kemik kütlesi iskelet gelişimi sırasında ulaşılan en fazla kemik miktarı olan pik kemik kütesine ve yaşamın daha sonraki dönemlerinde meydana gelen kemik yıkım derecesine bağlıdır (30).

Kemik kütlesi doğumdan sonra artmaya başlar ve kadınlarda 25–35 yaş, erkeklerde ise 35–40 yaşlarında en yüksek değer olan pik kemik kütesine ulaşılır (60). Bu dönemden sonra ise yavaş kemik kaybı başlar. Erkekler tüm yaşamları boyunca kemik mineralinin %20–30'unu yitirirler. Kadınlarda ise bu süreç daha erken başlayıp menopoz sonrası hızlanır, kayıp %45–50'dir. (44).

Kemik kütlesi erkeklerde kadınlara göre daha fazladır. Kadınlarda postmenopozal dönemde kemik kaybı hızlanır; 5-15 yıl sürer ve bu nedenle osteoporoza bağlı kırıklar en fazla kadınlarda görülür (60).

Kemik kütesinin temel belirleyicisi genetik etkenlerdir. Ancak uygun kalsiyum alımıyla birlikte dengeli beslenme, egzersiz, normal pubertal gelişim, genel sağlık durumunun iyi olması da pik kemik kütesinin belirleyicisidir (88).

Tüm hayat boyunca kemikte sürekli bir yapılma–yıkılma (turnover) vardır. Bunun sonucunda kemikte yeniden yapılanma meydana gelir. Osteoporoz ya yeni kemik yapımında bir duraklama ya da kemik yıkımında artma sonucunda ortaya

çıkır. Menopozda hızlı kemik kaybının asıl nedeni östrojen eksikliğidir. Normal bir kadında östrojen PTH'nın kemikler üzerindeki yıkım etkisini düzenleyerek, barsaklardan kalsiyum emilimini artırır. Menopoz döneminde östrojen eksikliğine bağlı olarak kalsiyum emilimi azalacağından, kalsiyum dengesi bozulur ve kemik yıkımı %85; kemik yapımı %45 oranında artar ve trabeküler kemikte net bir kayıp olur. Trabeküler kemikteki yıkım, kemik mikromimarisinde geri dönüşümsüz hasara neden olur. Kortikal kemikte ise yaşa bağlı sürekli bir kayıp vardır ve bu kayıp menopozla beraber biraz artma gösterir (88).

2.2.5. Risk Faktörleri

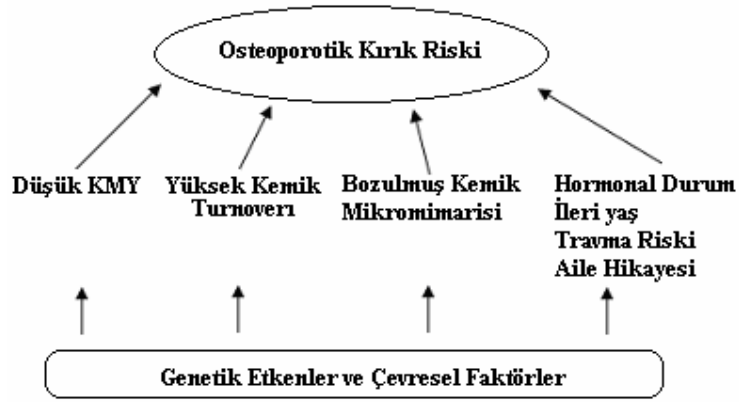
Osteoporoz ve osteoporotik kırık gelişiminde çeşitli risk faktörleri mevcuttur. Kemik mineral yoğunluğunun düşük olması, osteoporotik kırık oluşması açısından önemli bir risk faktörü olduğu gibi, KMY'nin düşük olmasına neden olan risk faktörleri de mevcuttur. Genel olarak bu risk faktörleri; yaş, ırk, genetik, hormonal, beslenme, yaşam tarzı faktörleri, çeşitli ilaçlar ve hastalıklar olarak sıralanabilir (72).

2.2.5.1. Genetik Faktörler

Son yıllarda ikiz ve aile çalışmalarında osteoporozun güçlü bir genetik komponentinin olduğu ve genetik faktörlerin KMY'yi düzenlemede önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (11, 92).

Osteoporozun tek gen mutasyonlarından dolayı Mendeliyen kalıtım kalıbında kalıtılabildiği birkaç durum dışında vakaların çoğunda genetik etkenlerin, hormonal, çevresel ve beslenme faktörleri tarafından düzenlendiği multifaktöriyel bir hastalık olduğu düşünülmektedir (Şekil 2.2.5.1.1) (28).

Osteoporozun moleküler temeli henüz aydınlatılamamıştır. Multifaktöriyel olmasının yanında yapılan çalışmalarda genetik faktörlerin kemik fenotipindeki değişikliklerin %70-80'inden sorumlu olduğu gösterilmiştir (83).



Şekil 2.2.5.1.1: Osteoporotik kırık riskinde genetik etkenler ve çevresel faktörlerin etkileşimi (Zajickova K et al., Endocr Regul, 2003’ den alınmıştır).

Hastalığın genetik temeli üzerine yapılan çalışmalar osteoporozla ilişkili çok sayıda aday gen olduğunu göstermiştir (98) (Tablo 2.2.5.1.1). Bu aday genlerden tip I kollajen genlerindeki (*COL1A1*, *COL1A2*) mutasyonların osteogenezis imperfektaya (OI) neden olduğu bilinmektedir (14). Nitekim osteoporoz ve OI arasındaki fenotip benzerliği nedeniyle bu genlerin osteoporozda da rol oynayabileceği düşünülmektedir (83). Yine steroid hormonlar kemik hücresi gelişiminde ve normal kemik yapısının korunmasında önemli rol oynar. Bu nedenle, steroid / tiroid hormon reseptör süperalesini (östrojen reseptör alfa “ER α ” ve Vitamin D reseptörü “VDR” gibi) kodlayan genlerdeki polimorfizmler son yıllarda ayrıntılarıyla araştırılmakta ve önemli aday genler ortaya konulmaktadır (28).

Osteoporozla ilgili genetik çalışmaların çoğunda gen polimorfizmi ve KMY ilişkisi araştırılmıştır (83). KMY, osteoporotik kırık riskinin en önemli belirleyicisidir. KMY değerinin %60-80’i genetik faktörler, %20-40’ı çevresel faktörler tarafından belirlenir (59).

Osteoporoz patogenezine genetik etkenlerin katkısı hala tam olarak bilinmemektedir. Gelecekte yapılacak olan çalışmalarda önemli bir amaç; bu etkenlerin fonksiyonel moleküler sonuçlarını tanımlamak, birbirleriyle ve osteoporotik fenotipe sebep olan çevre ile nasıl bir etkileşim içinde olduklarını ortaya

koymak olacaktır. Osteoporozdaki genetik çalışmaların bir diğer sonucu da farmakogenetik çalışmalar olmuştur. Bu sayede osteoporozu tedavi etmek için yaygın olarak kullanılan teropötik ajanların kullanımında yeni uygulamalar yapılabilmesi veya yeni teropötik ajanlar için hedef molekülleri belirlemek mümkün olacaktır (28).

Tablo 2.2.5.1.1: Bazı osteoporoz aday genleri ve kromozomal lokalizasyonları

Kategori	Aday Gen	Kromozomal Lokalizasyon	Polimorfizm	Protein
Kalsiyum Metabolizması Hormon ve Reseptörleri	<i>VDR</i>	12q13	FokI, BsmI, ApaI, TaqI	Vitamin D reseptörü
	<i>ERα</i>	6q25-27	PvuII-XbaI (intron 1) TA tekrarı (promotor)	Östrojen reseptörü α
	<i>ERβ</i>	14q23	CA tekrarı (18-32)	Östrojen reseptörü β
	<i>PTH</i>	11p15	BstB1	Paratiroid hormon
	<i>CTR</i>	7q21.3	AluI, TaqI	Kalsitonin reseptörü
Sitokinler, Büyüme Faktörleri ve Reseptörleri	<i>TGF-β1</i>	19q13	713-delC (intron 4), C/T (ekzon 5), T/C (ekzon 1)	Transforme edici büyüme faktörü β 1
	<i>IGF-1</i>	12q22-24	CA tekrarı (promotor)	İnsülin benzeri büyüme faktörü
	<i>IL-6</i>	7p21	AT tekrarı, G/C (promotor), CA tekrarı (13-18)	İnterlökin-6
Kemik Matriksi	<i>COL1A1</i>	17q21-22	SpI (intron 1)	Kollajen tip 1 α 1
	<i>COL1A2</i>	7q22	PvuII	Kollajen tip 1 α 2
	<i>BGLAP</i>	1q25	HindIII, C/T (promotor)	Osteokalsin
	<i>AHSG</i>	3q27	AHSG1/AHSG2 (ISE)	α 2HS Glikoprotein

2.3. Östrojen

Östrojen, büyüme, farklılaşma ve üreme sistemi dokularının fonksiyonları üzerine etkili bir steroid hormondur (74).

Gebe olmayan normal bir kadında, östrojen büyük miktarlarda yalnız overlerden, küçük miktarlarda da adrenal korteksten salgılanır. Gebelikte ise çok

büyük miktarlarda plasentadan salgılanır. Kadın plazmasında önemli miktarlarda bulunan üç tip östrojen 17β -östradiol, östron ve östriol olup; 18 karbonlu steroidlerdir (33).

Salgılanan başlıca östrojen olan 17β -östradiol, dolaşımında östron ile denge halindedir. Östron, daha sonra östriole dönüşür. Bu dönüşümün büyük bir kısmı karaciğerde gerçekleşir. Bu üç östrojen içinde etkisi en kuvvetli olan 17β -östradiol, en zayıf olanı ise östrioldür. Dolaşımdaki östradiolün %2'si serbesttir. Kalanı ise %60'ı albümine, %38'i testosteronu da bağlayan gonadal steroid-bağlayıcı globuline olmak üzere proteinlere bağlıdır (27).

Östrojen kemik yoğunluğunun korunmasında ve osteoporozla karşı korunmada önemli roller oynar (74). Postmenopozal dönemdeki kadınlarda östrojen eksikliği, osteoporoz patogeneğinde önemlidir. Menopoz sonrasında, overlerden hemen hemen hiç östrojen salgılanmaz. Bu dönemde kemiğin yeniden yapılanması artar. Bu artışın hem osteoblast hem de osteoklast üretimindeki artışa ve fonksiyonel yaşam süresinin osteoklast için uzarken, osteoblast için kısalması sonucu kemik yıkım-yapım dengesinin bozulmasına bağlı olduğu düşünülmektedir (33).

Özetle östrojen eksikliğine bağlı olarak;

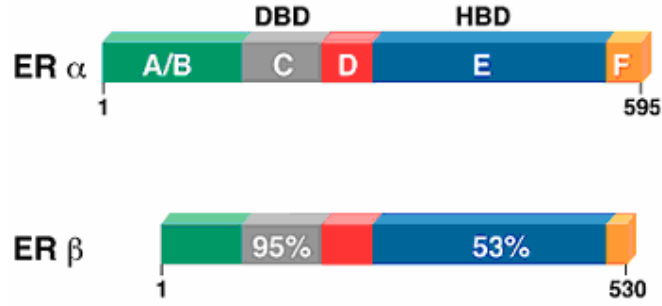
1. Kemiklerde osteoblastik aktivite azalır.
2. Kemik matrisi azalır.
3. Kemiklerde kalsiyum ve fosfor birikimi azalır. Bazı kadınlarda bu etki, son derece ciddi boyutlardadır ve osteoporozla sonuçlanır. Bu olay, kemikleri çok zayıflatarak kırıklara, özellikle omurga kırıklarına yol açar. Bu nedenle, postmenopozal dönemde, kadınların çoğunluğu östrojenle desteklenerek tedavi edilmektedir (33).

2.3.1. Östrojen Reseptörü

Östrojen reseptörü; ligand bağımlı transkripsiyon faktörlerinin süper ailesine ait olup, bir nükleer hormon reseptörüdür. Bugüne kadar $ER\alpha$ ve $ER\beta$ olmak üzere

iki farklı çeşidi tanımlanmıştır (29). ER α , 66 kDa moleküler ağırlıkta olup, 595 amino asit içerir (32). ER β ise ER α 'dan daha kısa olup, 54 kDa moleküler ağırlıkta ve 530 amino asitten oluşur (52).

ER α ve ER β , nükleer reseptör süper ailesinin yapısal özelliklerini gösterirler. Buna göre, ER'lerin yapısında N terminalden C terminale doğru A-F şeklinde adlandırılan 6 fonksiyonel domain bulunur (55) (Şekil 2.3.1.1).

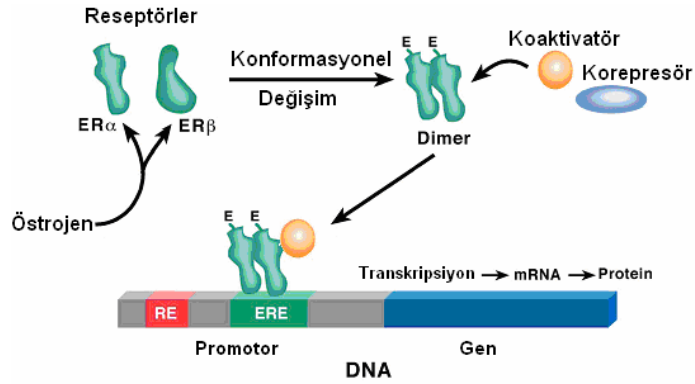


Şekil 2.3.1.1: ER α and ER β proteinlerinin yapısı ve fonksiyonel domainleri. DBD–DNA'ya bağlanan domain, HBD–hormon bağlayan domain (Osborne CK., J Clin Oncol, 2000'den alınmıştır).

ER α ve ER β arasında DNA'ya bağlanan domain (DBD/C) %95 ve hormon bağlayan domain (HBD/E) ise %53 homoloji göstermektedir. A/B, D ve E domainlerindeki koruma daha azdır (74).

Östrojen, farklı mekanizmalarla hücrenel değişiklikleri indükler. Bu mekanizmaların merkezi östrojenin bağlandığı ER'dir. Östrojenin etkisini gösterdiği klasik (genomik) mekanizmada, östrojen hücreye difüze olur ve nükleusda lokalize olan ER'ye bağlanır. Bu bağlanma, reseptörde konformasyonel bir değişikliği uyarır ve östrojen yokluğunda hsp90 şaperonlarına bağlı haldeki reseptörün hsp90'dan ayrılmasını sağlayarak reseptör dimerlerinin oluşumunu sağlar. Meydana gelen östrojen–ER kompleksi; reseptörün DNA'ya bağlanan domaini aracılığıyla ya koaktivator ya da korepresör proteinlerle birlikte hedef genin promotor ve/veya enhancer bölgelerinde yer alan ERE dizilerine bağlanır. Sonuçta bazen hedef genin

transkripsiyonu uyarılır, bazen de inhibe edilir ve ilgili protein konsantrasyonu hücrenin ihtiyacına göre düzenlenmiş olur (23, 48) (Şekil 2.3.1.2) .



Şekil 2.3.1.2: ER tarafından gen transaktivasyonunun mekanizması (Osborne CK et al., J Clin Oncol, 2000'den alınmıştır)

Östrojen reseptörleri kemik doku dışında merkezi sinir sistemi, kardiyovasküler sistem, immün sistem, ürogenital sistem, sindirim sistemi, böbrekler, karaciğer, akciğerler ve memede eksprese olmaktadır (53) (Şekil 2.3.1.2).

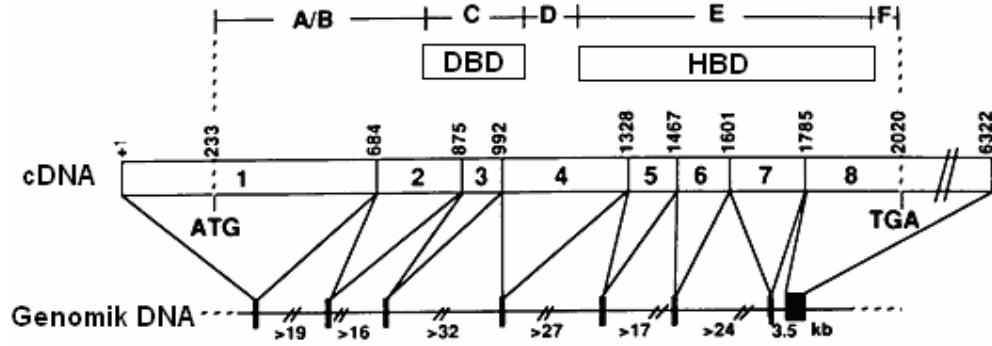
2.3.1.1. Östrojen Reseptör Alfa (*ERα*) Geni

Bugüne kadar farklı genlerle kodlanan fonksiyonel iki östrojen reseptörü (*ERα* ve *ERβ*) tanımlanmıştır. Bu reseptörlerden *ERα*'yı kodlayan insan *ERα* geni kromozom 6q25-27'de yer almakta olup, 140 kb uzunluğunda, 8 ekzon ve 7 introndan oluşmaktadır (32). Diğer reseptörü kodlayan *ERβ* geni ise kromozom 14q23-24.1'de lokalize olup, yaklaşık 40 kb uzunluğunda ve 8 ekzondan oluşur (54).

İnsan *ERα* geninin ekzon büyüklükleri sırasıyla 684, 191, 117, 336, 139, 134, 184 ve 4537 bç (toplam 6322 bç), intron büyüklükleri sırasıyla >19, >16, >32, >27, >17, >24 ve ~3.5 kb'dir (78) (Şekil 2.3.1.1.1).

İnsan *ERα* geni cDNA'sı 1.785 nükleotid olup, meme kanseri hücre dizisi MCF-7 kullanılarak 1986'da klonlanmış (32) ve genomik organizasyonu 2 yıl sonra tanımlanmıştır (78). *ERα* geninin 8 ekzonu, *ERα* proteininin yapısında yer alan 6

domaini (A-F) kodlar (55). ER α A/B bölgesi ekzon 1 tarafından kodlanır (41). Bu bölge maksimal transkripsiyonel aktivite için önemlidir (57). DNA'ya bağlanma için gerekli olan iki zincir finger motifi içeren C bölgesi ekzon 2 ve ekzon 3 tarafından kodlanır (26). Ekzon 4 C bölgesinin bir kısmını, D bölgesinin tümünü ve E bölgesinin bir kısmını kodlar (96). Hormon bağlayan domain, 5 ekzon (ekzon 4–8) tarafından kodlanır (32). Ekzon 8'in bir kısmı ER fonksiyonu için gerekli olmayan F bölgesini kodlar (Şekil 2.3.1.1.1) (56).



Şekil 2.3.1.1.1: İnsan ER α geninin genomik organizasyonu (Ponglikitmongkol M et al., EMBO J 1988'den alınmıştır).

2.4. Tip I Kollajen

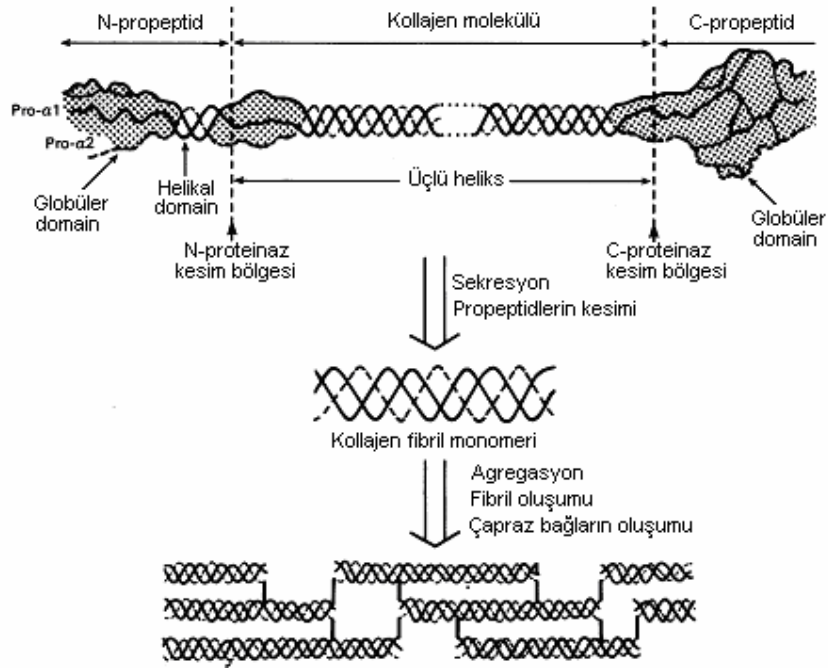
Tip I kollajen, bilinen 19 kollajenden en önemlisi olup, kemik organik matriksinin en önemli bileşenidir (25). Kemik organik matriksinin kalitesi, düzeni ve devamı, kemiğin mekanik fonksiyonu ve kırık karşısındaki direnci üzerinde etkilidir. Organik matriks kalitesindeki değişiklikler kemiğin enerjiyi emen ve hasarı tolere eden bir materyal olmaktan çıkıp, gevrek bir oluşum haline gelmesine neden olabilir (84).

Tip I kollajen heterotrimerik bir molekül olup iki $\alpha 1(I)$ ve bir $\alpha 2(I)$ zincirinden oluşmaktadır (21). Her α zincirinde, her üç amino asitte bir tekrarlayan glisin (Gly) bulunur. Böylece bu yapının sarmal şeklini alması kolaylaşmış olur. Bu yapı (-Gly-X-Y-)₃₃₃ şeklinde bir formülle ifade edilebilir (7).

Tip I kollajen, ribozomlarda ilk olarak bir öncül molekül olan ve N-terminalinde yaklaşık 100 amino asitlik bir sinyal dizisi içeren preprokollajen şeklinde sentezlenir. Preprokollajenin N-terminali endoplazmik retikulumun veziküler aralığına girdikçe sinyal dizisi ayrılır ve prokollajen molekülü oluşur (101).

Prokollajen molekülü, N ve C terminallerindeki globüler domainlerle (N ve C propeptidler) üçlü sarmal oluşturan iki pro $\alpha 1(I)$ ve bir pro $\alpha 2(I)$ zincirini içerir (17). Bu molekül, endoplazmik retikulumun veziküler aralığında modifiye edilir. Bu modifikasyon, polipeptid yapısı içindeki prolin ve lizin kalıntılarının hidroksillenerek hidroksiprolin ve hidroksilizin haline dönüşmesini, hidroksilizin kalıntılarının galaktozillenmesini, disülfid bağlarının ve üçlü sarmalın oluşması işlemlerini kapsar (101). Tamamlanan bu büyük yapı, hücreden sekrete edilir. Hücreden sekrete edildikten sonra prokollajenin N ve C terminalindeki propeptidler N-proteinaz ve C-proteinaz enzimleri ile uzaklaştırılmasıyla tropokollajen oluşur. Tropokollajen molekülleri birçok hidroksillenmiş prolin ve lizin ile bağlanarak kollajen fibrillerini şekillendirir. Her fibril, tropokollajen moleküllerinin çapraz bağlar yaparak zig zag şeklinde ve boşluklarla ayrılmış olarak, paralel sıralanmasıyla oluşur. Kollajen fibrilleri elektron mikroskopunda enine çizgili şekilde görünür (77) (Şekil 2.4.1).

Bu yapı fizyolojik koşullar altında son derece dayanıklıdır. Tip I kollajen sadece kemik dokuda mineralize olma özelliğindedir (15). Nitekim kollajen fibrilleri arasındaki boşlukları non-kollajen proteinler doldurur (7). Non-kollajen proteinlerden osteopontin ve osteokalsin kalsiyumu bağlayarak kollajen fibrilleri ile birleşir ve böylece osteoid dokuda (mineralize olmamış matriks) mineralizasyon meydana gelir (62). Eğer kemiğin mineralize kısmı çıkarılacak olursa kemik bir lastik gibi fleksibilite kazanmakta, buna karşılık organik kısım tahrip edilirse sert ve kırılabilir bir kemik elde edilmektedir (1). Bu nedenle, kemik mineralizasyonunda görev alan ve kemiğe esneklik kazandıran organik matriksin %90'ını oluşturan tip I kollajende meydana gelebilecek bir bozukluk OI, Ehlers–Danlos Sendromu, Marfan Sendromu ve osteoporoza neden olabilmektedir (88).



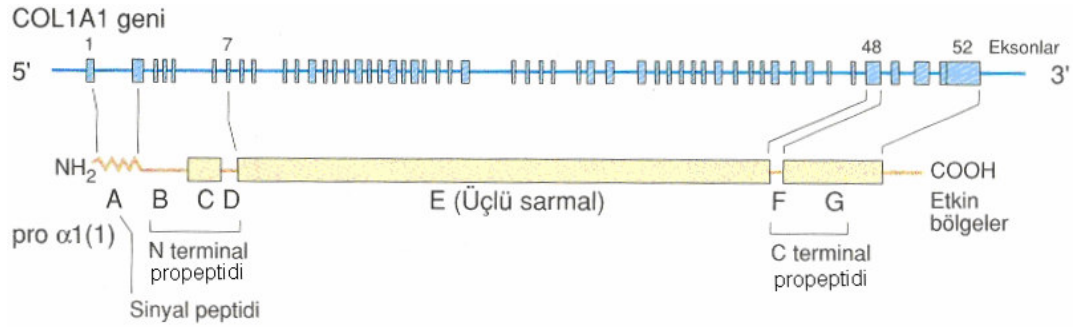
Şekil 2.4.1: Tip I kollajenin sentezi (Cheah KS., Biochem J, 1985'den alınmıştır).

2.4.1. Kollajen Tip I Alfa 1 (COL1A1) Geni

Tip I kollajen, vücutta çok miktarda bulunan yapısal protein olup, deri, kemik ve tendonların temel proteinidir (81). Tip I kollajen, heterotrimer yapıda olup, farklı genler tarafından kodlanan 2 adet $\alpha 1(I)$ ve 1 adet $\alpha 2(I)$ zincirlerinden oluşmaktadır (67). Bu zincirlerden pro $\alpha 1(I)$ zincirinin kodlayan kollajen tip I alfa 1 (*COL1A1*) geni kromozom 17q21-22'de lokalize olup, 18 kb uzunluğunda ve 52 ekzon, 51 intron içermektedir (51).

Pro $\alpha 2(I)$ zincirlerini kodlayan kollajen tip I alfa 2 (*COL1A2*) geni ise kromozom 7q21.3-q22.1'de lokalize, 38 kb uzunluğunda, 52 ekzon, 51 introndan oluşmaktadır (18). Her iki gendeki ekzon büyüklükleri 45-283 bp arasında değişmektedir. Bu genlerin en temel özelliği kollajen zincirlerinin üçlü heliksi kodlayan ekzonlarının çoğunlukla 54 bp uzunluğunda olmasıdır (21).

Tip I kollajenin pro $\alpha 1(I)$ zinciri 1464 amino asitten oluşan 140 kDa (102) ağırlığında bir protein olup yapısında sinyal peptidi (A bölgesi), N terminal propeptidi (B,C,D,E bölgesi), üçlü heliks domaini (E bölgesi) ve C terminal propeptidi (F,G bölgesi) yer almaktadır. Pro $\alpha 1(I)$ zincirini kodlayan COL1A1 geninin 1. ekzonu sinyal peptidi, 2–6. ekzonları N terminal propeptidi, 7–48. ekzonları ve 49. ekzonun bir kısmı üçlü heliks domainini ve 49–52. ekzonlar C terminal propeptidi kodlamaktadır (77) (Şekil 2.4.1.1).



Şekil 2.4.1.1: Tip I kollajen pro $\alpha 1(I)$ zinciri ve *COL1A1* geninin yapısı (Passarge E., Renkli Genetik Atlası, 2000'den alınmıştır).

2.5. Polimorfizm

İnsan genomundaki DNA, farklı tipte, kalıtılabilen değişiklikler gösterir. Belirli bir DNA dizisindeki herhangi bir değişikliğe mutasyon adı verilmekle birlikte, mutasyon terimi genellikle bir hastalığa yol açan dizi değişikliği anlamında kullanılmaktadır. Alel değişikliği - alelik varyant terimi ise, bir hastalığın fenotipini etkileyebilmesine rağmen hastalığa neden olmayan farklılıklar olarak kabul edilir. (19).

Bir lokustaki bir alel frekansı 0.01'den daha fazla meydana geliyorsa, bu alel dizi değişikliğine polimorfizm adı verilir (19). Polimorfizm örnekleri çoğu kez DNA'nın kodlanmayan bölgelerinde yer alır. Ancak bu değişimler kimi zaman hastalığa neden olan bir genin içinde veya çok yakınında yer alabilir. Bu durumda polimorfizmin kalıtımı bize hastalığın tanısı için yardımcı olur. İnsan genomunda yer alan DNA polimorfizm örnekleri genel olarak dört grupta değerlendirilir. Bunlar;

- Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmleri
- Değişken sayıda ardışık dizi polimorfizmleri
- Basit dizi tekrarları
- Tek nükleotid polimorfizmleridir.

Polimorfizmler popülasyonda düşük sıklıkta olmasına karşın bazı durumlarda çok önemlidirler. Polimorfizimlerin yaklaşık %90'nını oluşturan ve insan genomunun yüksek çeşitliliğinin doğal etkeni olan tek nükleotid polimorfizmleri (TNP) belirli hastalıklara yatkınlığı arttırabilir ya da azaltabilir. Bu etkilerini de, ilaç yanıtını değiştirmelerinde olduğu gibi, fizyolojik fonksiyonları düzenleyerek veya bozarak yaparlar (19, 85).

TNP genotipleme genetik haritalama, farmakogenetik çalışmalar, etken madde araştırmaları ve popülasyon genetiğini de içine alan geniş bir yelpazedeki genetik çalışmalar için son yıllarda tercih edilen bir teknoloji haline gelmiştir. TNP'ler bu etkilerini ya ilaç yanıtını değiştirerek, ya da fizyolojik fonksiyonları düzenleyerek veya bozarak yapar (75).

2.6. Restriksiyon Fragmentinin Uzunluk Polimorfizmleri

Restriksiyon endonükleaz (RE) enzimleri bakterilerde doğal olarak çok miktarda bulunan enzim türleridir. Bu enzimler DNA'yı molekül içinde kestikleri için endonükleaz, aktiviteleri yabancı DNA'da sınırlı kaldığı için restriksiyon tanımını alır (85).

Restriksiyon endonükleaz enzimlerinin, DNA molekülünde spesifik olarak tanıdıkları diziler mevcuttur. DNA molekülünde mutasyon ya da polimorfizmden kaynaklanan dizi değişiklikleri ya var olan RE tanıma bölgesinin ortadan kalkmasına ya da yeni tanıma bölgesinin oluşmasına neden olmaktadır. Hedef DNA bölgesinin RE enzimi ile kesilmesi sonucu oluşan ve uzunlukları açısından çeşitlilik gösteren DNA fragmentleri Southern blot ve DNA dizileme gibi farklı yöntemler ile saptanabilir. Bu fragmentler Restriksiyon Fragmentinin Uzunluk Polimorfizmleri

(RFLP) olarak adlandırılır. RFLP'ler birçok hastalıkta kalıtsal marker olarak kullanılmaktadır. (73, 85).

RFLP'ler tek nükleotid değişimleri, delesyon veya insersiyon sonucunda meydana gelmektedir. Tek nükleotid polimorfizmlerinin saptanmasında PCR-RFLP yönteminden de yararlanır. PCR-RFLP yönteminde öncelikle incelenecek polimorfik bölge, bu bölgeye spesifik primerler kullanılarak PCR yöntemiyle çoğaltılır. Daha sonra uygun RE enzimi ile PCR ürününün kesilmesi sonucu elde edilen fragmentler agaroz jel elektroforezinde yürütülerek analiz edilir (73, 85).

2.7. Eş Zamanlı PCR Yöntemi

Moleküler genetikte yaygın olarak kullanılan yöntemlerin çoğu, hedef molekülün PCR yöntemi ile çoğaltılması esasına dayanır. PCR yöntemi ile çoğalma süresince floresan ölçümler yapabilen eş zamanlı PCR cihazlarının gelişmesi ile kantitatif sonuçlar elde etmek ve tek tüpte farklı mutasyonları eş zamanlı olarak belirlemek mümkün hale gelmiştir (19).

Higuchi ve arkadaşları tarafından geliştirilen eş zamanlı PCR'nin temel amacı, çok düşük miktarda olsa bile bir örnekteki spesifik nükleik asit dizilerini kesin şekilde ayırmak ve ölçmektir. PCR'ın, modern floresan kimyasallarla birleşmesi ve amplifikasyonun reaksiyon boyunca izlenmesi eş zamanlı PCR'ın temelidir. Eş zamanlı PCR'da bir örnekteki spesifik bir hedef dizi amplifiye olur ve sonrasında floresan teknolojisi ile amplifikasyonun ilerleyişi görüntülenir (38, 93).

Eş zamanlı PCR'nin avantajları, hız, kopyalama oranında artış, kontaminasyon riskinde azalma, otomasyon imkanı ve PCR reaksiyonunu eş-zamanlı olarak gözlemeye izin vermesidir. Ayrıca klasik yöntemlerdeki gibi, başlangıç materyalinin miktarını tam olarak ölçmeye de imkan verir. Direk olarak saptanan sinyal, biriken PCR miktarı ile ilişkilidir (19).

Bu yöntemin geliştirilmesinden sonra, bir çok farklı yöntem daha ortaya konmuş ve çok farklı şekillerde bir çok eş zamanlı PCR cihazı giderek artan sayıda üretilmiştir. Amplifikasyon sürecini göstermek için farklı boya ve prob lar kullanılmaktadır. Bunlar:

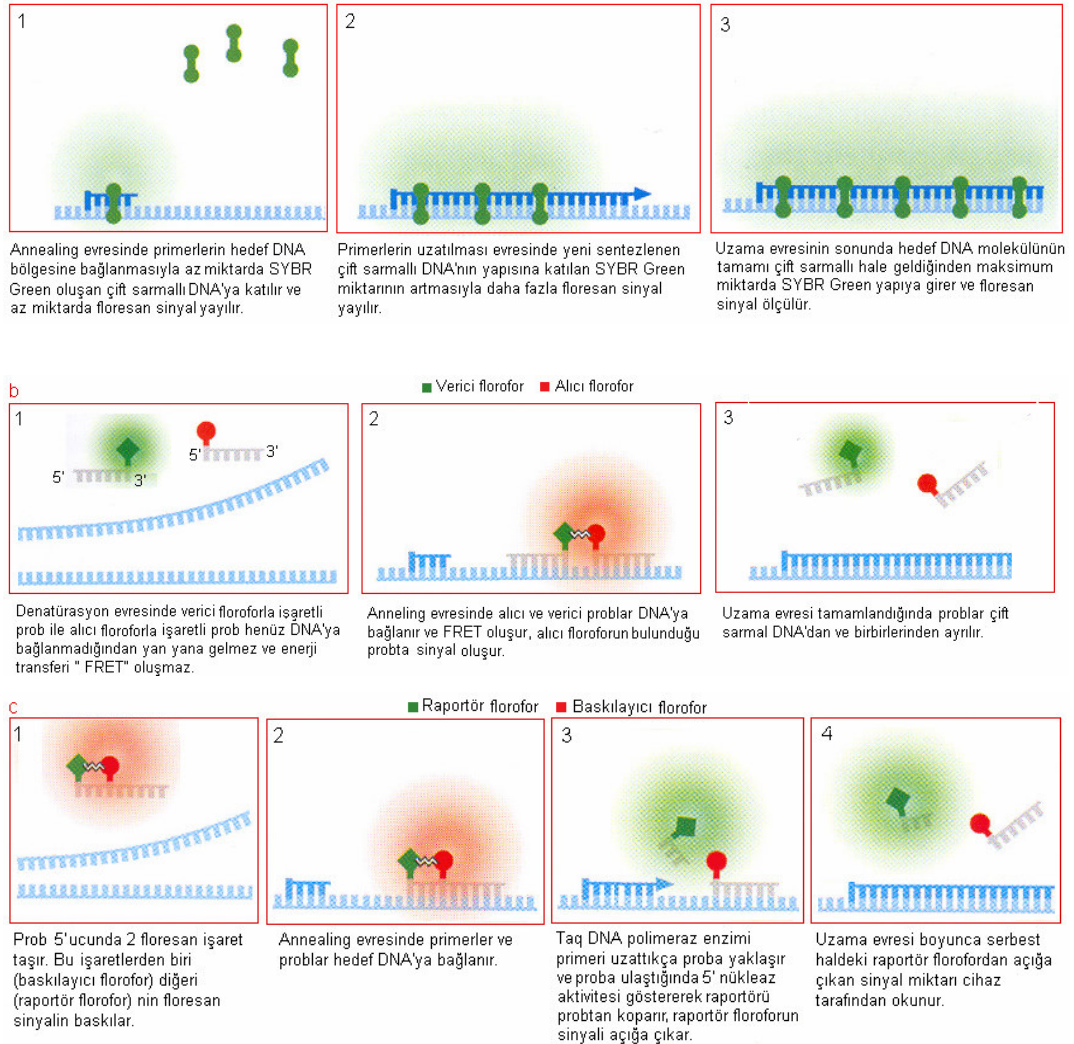
- Dizi spesifik olmayan floresan boyalar: Bu tür boyalar DNA molekülünün tamamına bağlanabilen boyalardır. Sıklıkla kullanılan SYBR Green boyası, çift sarmallı DNA'ya bağlanarak floresan sinyallerin artmasını sağlar ve genellikle gen dozajını belirlemek için kullanılır (19) (Şekil 2.7.1.a).

- Dizi spesifik floresan prob lar: Hedef diziye özgül ve floroforlarla işaretli prob lar dır. Spesifik DNA dizisi mevcut ise reaksiyona katılırlar. Dizi spesifik prob lar hibridizasyon ve hidroliz prob larını içerir.

- Hibridizasyon prob ları: Fluorescence Resonance Energy Transfer "FRET" prensibi ile çalışırlar. FRET, 3' ucu floresan işaretli bir verici prob dan yakındaki 5' ucu floresan işaretli alıcı prob a enerji transfer etme işlemidir. Bu transfer işlemi sonucunda oluşan floresans sinyal miktarı ortamdaki hibridizasyonun dercesine diğer bir deyişle PCR siklusu süresince oluşan ürünlerin miktarına bağlı olarak artmaktadır. Eksitasyon ve emisyonları birbiri üzerine çakışan iki florofor, fiziksel olarak birbirine yakın ise, bir floroforun eksitasyonu ikinci floroforu uyararak floresan ışımaya neden olacaktır (Şekil 2.7.1.b). Hibridizasyon prob ları genellikle erime eğrisi analizi ile tek nükleotid değişimlerinin saptanması için kullanılır (19).

- Hidroliz prob ları (TaqMan): Taq polimerazın 5' – 3' nükleaz aktivitesinden yararlanan prob sistemidir. Mutasyon tayini, PCR amplifikasyonu sonrası iki alele özgül rapörtör boyanın sinyal yoğunluğunun ölçülmesiyle yapılır. Yöntemin esası, 5' ve 3' uçlarından florofor maddelerle işaretli prob kullanılmasına dayanır. Probun 5' ucunda rapörtör florofor, 3' ucunda ise baskılayıcı florofor bulunmaktadır. Prob – hedef DNA molekülü arasındaki hibridizasyon devam ettiği sürece rapörtör floroforun sinyal oluşturması, 3' uçtaki baskılayıcı florofor tarafından engellenmektedir. Primerlerin hedef DNA'ya bağlanmasıyla başlayan primer

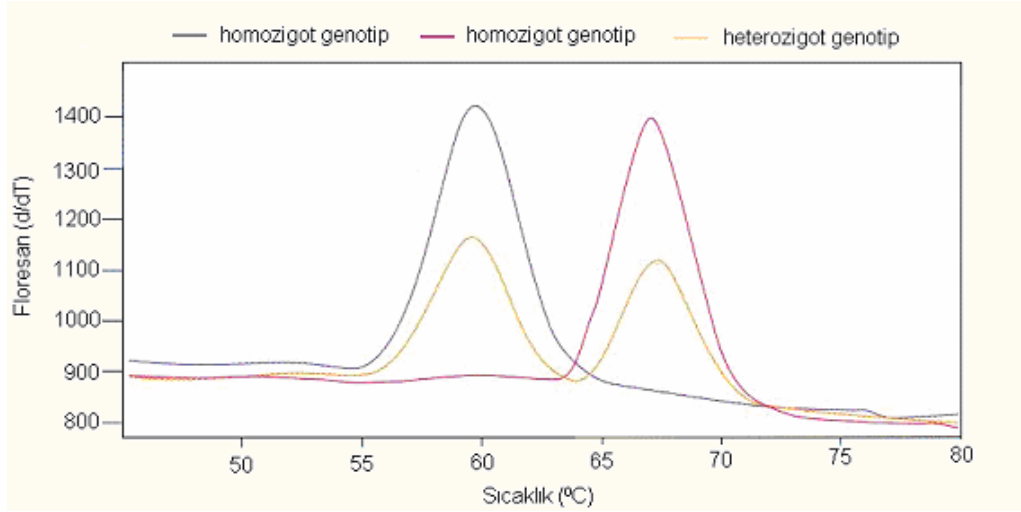
uzaması, probun bağlandığı noktaya kadar geldiğinde, sentezin devam edebilmesi için Taq DNA polimeraz enzimi 5' – 3' nükleaz aktivitesini kullanarak probu 5' uçtan yıkmaya başlar. Böylece raportör florofor serbest hale geçer ve sinyal oluşturur. Her döngüde meydana gelen PCR ürünü miktarına paralel olarak sinyal şiddeti de artar (19) (Şekil 2.7.1.c). Ticari olarak geliştirilmiş eş zamanlı PCR sistemlerine örnek olarak ABI Prism 7000 (Applied Biosystem), iCycler iQ (Bio-Rad), LightCycler (Roche), Rotor-Gene (Corbett) verilebilir (93).



Şekil 2.7.1. Eş zamanlı PCR yönteminde yaygın kullanılan boya ve prob türleri a) SYBR Green boyası b) Hibridizasyon problemleri c) Hidroliz problemleri (TaqMan)

2.7.1. LightCycler Sistemi

LightCycler sisteminin özelliği polimeraz zincir reaksiyonunu floresan ölçüm sistemi ile birleştirerek, DNA amplifikasyonunun eş-zamanlı izlenmesini sağlamaktır. Sistemde, normal PCR'da kullanılan primerlere ek olarak, floresan işaretli iki prob kullanılmıştır. Problemlerden biri, polimorfizm içeren bölgeye, diğeri hemen bunun yakınına spesifiktir. Bu yöntemde genotiplerin ayırt edilmesi erime eğrisi analizi ile gerçekleştirilmektedir. Erime eğrisi analizi için, DNA amplifikasyonun tamamlanmasından sonra, sıcaklık kademeli olarak yükseltilir ve her bir örnek için erime eğrisi elde edilir (Şekil 2.7.1.1.). Polimorfik dizi ile floresan işaretli prob arasında oluşan yanlış eşleşme sonucu oluşan heterodupleks, normal dizi ile prob arasında oluşan duplekse oranla daha az stabildir. Bu durum, polimorfizm içeren dupleksin daha düşük bir erime noktasına sahip olmasına ve sıcaklık yükseltilmesi sırasında daha düşük bir sıcaklıkta ayrışmasına yol açmaktadır. Matematiksel bir dönüşüm kullanılarak erime eğrilerinden floresan değerinin negatif türevinin sıcaklığa göre değişimini veren profiller elde edilerek, değişik allellere ait farklı erime sıcaklıkları gösteren eğriler izlenmektedir (64, 79, 80) (Şekil 2.7.1.1.).



Şekil 2.7.1.1. LightCycler sisteminde hibridizasyon problemleri kullanılarak elde edilen floresan erime eğrisi pikleri.

Bu çalışmada postmenopozal kadın olgularda kemik mineral yoğunluğu ile *ERα* geni PvuII ve XbaI polimorfizimleri ile *COL1A1* geni Sp1 polimorfizmi

arasındaki ilişkinin PCR-RFLP ve eş zamanlı PCR yöntemleri kullanılarak belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamız, ülkemizde bu olgu grubunda yapılan diğer çalışmalardan, *ERα* geni PvuII ve XbaI polimorfizmleri ile *COL1A1* geni Sp1 polimorfizminin birlikte değerlendirilmesi yönüyle ayrılmaktadır. Ayrıca *COL1A1* geni Sp1 polimorfizmi ilk olarak bu çalışmada eş zamanlı PCR yöntemi kullanılarak belirlenmiştir.

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Gereçler

3.1.1. Materyal Seçimi

Çalışmamıza, Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi ve Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon polikliniklerine başvuran ve postmenopozal dönem süresi en az 1 yıl olan 126 postmenopozal kadın olgu alındı.

Olgular çalışmaya dahil edilmeden önce sekonder osteoporoz nedeni olabilecek hastalık ya da kemik metabolizması üzerinde etkili ilaç kullanım öyküsü gibi aşağıdaki risk faktörleri açısından ayrıntılı olarak sorgulandı.

- Yaş, boy (m), vücut ağırlığı (kg)
- Menarş yaşı, menopoza girme yaşı
- Menopoz sonrası geçen süre (yıl)
- Gebelik ve çocuk sayısı
- Sekonder osteoporoz etkeni olabilecek hastalıklar (diabet, tiroid hastalıkları, karaciğer, böbrek hastalıkları vs.)
- Ailede osteoporoz öyküsü
- Sigara, alkol kullanımı
- İmmobilizasyon
- Jinekolojik operasyon öyküsü
- Kırık öyküsü
- Kullandıkları ilaçlar ve kullanım süreleri (oral kontraseptif, kalsiyum, hormon replasman tedavisi ve diğer ilaçlar) kaydedildi.

Sekonder osteoporozaya yol açan patolojileri ekarte etmek amacıyla tedavinin başlangıcında tüm hastalarda ayrıntılı bir klinik ve laboratuvar değerlendirme gerçekleştirildi. Laboratuvar değerlendirmelerinde; tam kan sayımı, eritrosit sedimentasyon hızı, rutin biyokimyasal tetkikler, 24 saatlik idrarda kalsiyum-kreatinin düzeyi, tiroid hormonları, parathormon, 25 hidroksi vitamin D₃ ve kortizol düzeyleri ve serum protein elektroforezi tetkikleri yapıldı. Ayrıca kemik metabolizmasına yönelik olarak serum osteokalsin düzeyleri değerlendirildi. Önemli bir sistemik hastalık ve malignite öyküsü olanlar, kemik metabolizmasını etkileyecek bir hastalığı olanlar, kemik metabolizmasını etkileyen ilaçları uzun süre kullanan hastalar ve daha önce osteoporozaya yönelik herhangi bir medikal tedavi alan hastalar çalışma dışı bırakıldı.

Olguların kemik mineral yoğunluğu ölçümleri, DEXA yöntemi ile Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon polikliniğine başvuranlarda GE-LUNAR DPX-NT, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon polikliniğine başvuranlarda HOLOGIC QDR-4500W cihazı kullanılarak yapıldı. Lomber omurga (L1-L4) ve sol femur boynu KMY (g/cm²) değerleri ile T ve Z skorları kaydedildi. Çalışmaya dahil edilen 126 kadın olgu T skoru değerlerine göre aşağıdaki gibi gruplandırıldı.

T skoru > -1 : Normal (30 olgu)
-1 > T skoru > -2.5 : Osteopenik (46 olgu)
T skoru < -2.5 : Osteoporotik (50 olgu)

Çalışmaya dahil edilen olgulara ait örnekler Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıbbi Etik Kurulu kararlarına uygun olarak, gönüllü olur formlarının imzalanmasını takiben toplandı.

3.1.2. Kullanılan Cihazlar

Cihaz Adı	Marka-Model
Eş Zamanlı PCR	LightCycler® Instrument 1.5 Roche Diag.,
Karusel Santrifüj	LC Carousel Centrifuge 2.0 Roche Diag.,
LightCycler® Kapiller (20 µl)	Roche Diagnostics, Almanya
LightCycler® Santrifüj	Roche Diagnostics, Almanya
LightCycler® Capping Tool	Roche Diagnostics, Almanya
Soğuma bloğu	Roche Diagnostics, Almanya
Thermal Cycler	Eppendorf Mastercycler personal
Buzdolabı	Profilo
Derin dondurucu	Bosch
Soğutmalı santrifüj	Thermo
Hot Plate	Nüve
Mikropipetler	Eppendorf
Vorteks	Velp
Spektrofotometre	Nanodrop ND-1000
Güç Kaynağı	Apelex PS 503
UV Transillüminatör	UVP
Görüntüleme Kabini	Biolab
Dijital Fotoğraf makinesi	Fujifilm S7000 Digital Camera
Yatay Elektroforez Tankı	
Çeker Ocak	
Mikrodalga fırın	Arçelik
Hassas terazi	Sartorius
Distile su cihazı	Barnstead

3.1.3. Kullanılan Kimyasallar

Kimyasal Adı	Marka
COL1A1 SP1 ToolSet™ for LightCycler™	Genes-4U AG, İsviçre
LightCycler® FastStart DNA Master HybProbe	Roche Diagnostics, Almanya
E.Z.N.A™ DNA İzolasyon Kiti	
Primer sentezleri	MWG Biotech, Almanya
PCR tamponu	Bioron, Almanya
dNTP karışımı	Larova, Almanya
Taq DNA polimeraz	Bioron, Almanya
MgCl ₂	Bioron, Almanya
XbaI (20.000U/ml)	Bioron, Almanya
PvuII (10 U/ml)	Bioron, Almanya
PCR DNA Marker	Amresco, E854, ABD
100 bç'lik Marker	Amresco, K180, ABD
BSA	Amresco, ABD
Agaroz	Amresco, ABD
Etidyum bromür (10mg/ml)	
5X TBE	
Etanol	
Brom fenol blue	

3.2. Yöntemler

Bu çalışmada, incelemeye alınan postmenopozal olguların periferik kan örneklerinden genomik DNA elde edildi. İzole edilen her DNA molekülü; *ERα* geni PvuII ve XbaI polimorfizmleri, *COL1A1* geni Sp1 polimorfizmi açısından değerlendirildi. Değerlendirme için PCR-RFLP ve eş zamanlı PCR yöntemleri kullanıldı. Deneysel uygulamalar şu işlemlerden oluştu:

3.2.1. DNA İzolasyonu

Olgulara ait kan örnekleri, pıhtılaşmayı engellemek için etilendiamintetraasetik asitli (EDTA) tüplere alındı ve DNA izolasyonu yapılıncaya kadar +4° C’de saklandı. DNA örnekleri E,Z,N,A™ DNA izolasyon kiti ile aşağıda verilen işlem basamakları uygulanarak izole edildi.

E,Z,N,A™ DNA izolasyon kitinin içeriği

Solüsyon	Miktar	Kullanım Şekli
HiBind DNA Kolon	200 adet	
2 ml Santrifüj Tüpleri	600 adet	
Buffer BL	60 ml	
Wash Buffer (Konsantre)	2 X 60 ml	Kullanmadan önce 90 ml absölu etanol eklendi.
HB Buffer	110 ml	
Elution Buffer	100 ml	Kullanmadan önce 70°C’ye ısıtıldı.
Proteaz Enzimi	4 X 70 mg	1 ml bidistile H ₂ O’da çözüldü. Alikotlanarak kullanılıncaya kadar -20°C’de saklandı.
RNaz A	1.15 ml	

İşlem Basamakları

1. Örneğin isim ve DNA numarası bilgileri steril eppendorf tüpe ve takip defterine yazılarak kayıt altına alındı.
2. Her bir kan örneğinden 250 µl alınıp 1.5 ml’lik steril eppendorf tüplere konuldu.
3. Üzerine 250 µl Buffer BL, 5 µl RNaz A ve 20 µl Proteaz enzimi eklenip 10-15 sn vortekslendi.
4. Tüpler sıcak su banyosuna yerleştirildi ve oluşan lizat solüsyonu 45°C’de 20 dk. inkübe edildi (Bu aşamada tüpler 1-2 kez vortekslendi).
5. Sıcak su banyosundan alınan tüplere 260 µl etanol (%100) ilave edilip 10-15 sn vortekslendi.
6. Tüp içeriği 2 ml’lik santrifüj tüplerine yerleştirilmiş Hibind DNA spin kolona aktarıldı.

7. Tüpler 10.000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi.
8. Santrifüj tüpleri atıldı ve spin kolon yeni bir santrifüj tüpüne yerleştirildi.
9. Üzerine 500 µl HB Buffer ilave edildi.
10. Tüpler 10.000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi.
11. Santrifüj tüplerindeki sıvı döküldü, aynı tüp içine yerleştirilen spin kolon üzerine 650 µl Wash Buffer ilave edildi ve 10.000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi.
12. Santrifüj tüpleri atıldı ve spin kolonlar yeni bir santrifüj tüplerine yerleştirilip 650 µl Wash Buffer ilave edildi.
13. Tüpler 10.000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi.
14. Tüpler değiştirilmeden bir kere daha 10.000 rpm'de 1 dk santrifüj edilerek. Artıkların tamamen spin kolondan ayrılması sağlandı.
15. Spin kolonlar 1.5 ml'lik steril tüplere yerleştirildi ve üzerine 100 µl 70°C'de bekleyen Elution Buffer eklendi.
16. Tüpler 70 °C'de 5 dk inkübe edildi.
17. Tüpler 10.000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi.
18. Tüpler değiştirilmeden tekrar 100 µl Elution Buffer eklendi ve 70 °C'de 5 dk inkübe edilip 10.000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi.
19. Spin kolonlar atıldı ve son volümü 200 µl olan DNA örneği elde edildi.
20. İzolasyon sonrası elde edilen her örnek için DNA miktar ve saflık tayini spektrofotometre (Nanodrop ND-1000) kullanılarak ölçüldü.
21. DNA örnekleri etiketlenerek analize kadar -20 °C'de saklandı.

3.2.2. ERα Geni PvuII ve XbaI Polimorfizmlerinin PCR-RFLP Yöntemiyle Belirlenmesi

3.2.2.1. İzole Edilen DNA Örneklerinin PCR İle Amplifikasyonu

Olgulardan elde edilen DNA örneklerinin PCR ile amplifikasyonu için 50 µl'lik reaksiyon karışımı hazırlandı.

Reaksiyon karışımının içeriği

Solüsyon	Miktar
PCR Buffer (10x)	5 µl
MgCl ₂ (25 mM)	4 µl
dNTP mix (25 mM)	0.2 µl
Taq DNA polimeraz (5U / µl)	0.5µl
İleri primer (10 pmol)	0.55 µl
Geri primer (10 pmol)	0.55 µl
DNA	5 µl (~100 ng)
dH ₂ O	34.2 µl
Toplam	50 µl

ERα Geni İnton 1 Bölgesi İçin Kullanılan Primer Dizileri:

Hedef bölgeyi çoğaltmak için kullanılan primer dizileri aşağıda belirtildiği gibidir.

ERα geni intron 1'deki T/C (IVS-401 T→C) ve A/G (IVS-354 A→G) polimorfizmlerini belirlemek için;

İleri primer F 5' CTG CCA CCC TAT CTG TAT CTT TTC CTA TTC TCC 3'

Geri primer R 5' TCT TTC TCT GCC ACC CTG GCG TCG ATT ATC TGA 3'

primerleri kullanıldı. Bu primerler, genin 1. intronun 1372 bç'lik bölgesini çoğaltmak amacıyla kullanıldı (49).

ERα Geni İnton I'in Amplifikasyon Şartları

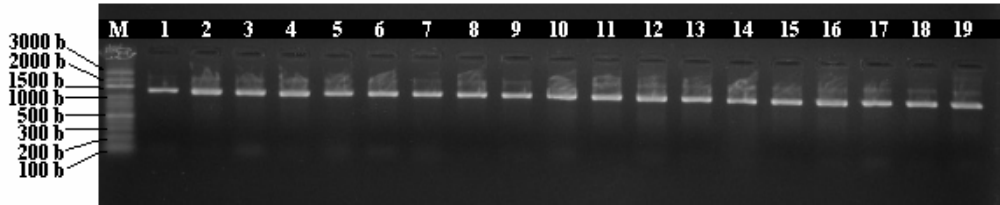
ERα'nın hedef bölgesinin çoğaltılması için seçilen primerlere göre PCR reaksiyonu aşağıda belirtilen koşullarda gerçekleştirildi.

Başlangıç denatürasyonu	94 °C' de 5 dk	} 35 Döngü
Denatürasyon aşaması	94 °C' de 30 sn	
Hibridizasyon aşaması	62 °C' de 20 sn	
Sentez (Uzama) aşaması	72 °C' de 1.5 dk	
Son sentez aşaması	72 °C' de 10 dk	

ERα geni intron 1 bölgesinin çoğaltılması için hazırlanan reaksiyon karışımı 0.2 ml' lik tüplere dağıtıldı ve üzerine saflaştırılan genomik DNA eklendi. Tüm işlemler, tepkimenin doğru gerçekleşmesi için buz üstünde yapıldı. Bu şekilde elde edilen reaksiyon karışımı 3000-4000 dev/dak'da 10-12 saniye santrifüj edildi ve ardından thermal cyler cihazına yerleştirilerek tepkime gerçekleştirildi.

3.2.2.2. Amplifikasyon Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezi İle İncelenmesi

PCR reaksiyonları sonucu oluşan DNA'ları yürütmek için %2 lik agaroz jel hazırlandı. %2'lik agaroz jel, 200 ml 0.5X TBE içinde 4 g agaroz kaynatılarak hazırlandı ve içine 10 µl (0,25 M) EtBr ilave edildi. Jel tanka dökülerek donması beklendi. 10 µl PCR ürünü, 5 µl marker (100 bç'lik) ve 2 µl bromfenol blue pipetajla karıştırılarak kuyucuklara yüklendi. Jel 150 voltta 30 dakika elektroforeze tabi tutuldu. Ultraviyole ışık altında PCR'da kullanılan primer çiftlerine göre oluşan DNA bantları incelendi ve fotoğrafı çekildi (Şekil 3.2.2.2.1).



Şekil 3.2.2.2.1: *ERα* geni intron I bölgesi amplifikasyon ürünleri

3.2.2.3. *ERα* Geni İntron I Bölgesinin PvuII Restriksiyon Enzimi İle Kesimi

Amplifikasyon ürünleri %2'lik agaroz jel elektrofrezinde yürütülerek 1372 bp'lik bantlar gözlemlendikten sonra PCR ürünleri PvuII restriksiyon enzimi ile kesildi.

Reaksiyon karışımının içeriği

Solüsyon	Miktar
Enzim	1.5 µl (40 ünite)
Buffer (10X)	4 µl
PCR ürünü	8 µl

Hazırlanan reaksiyon karışımı 37°C'de 4 saat inkübe edilerek PvuII spesifik kesimler gerçekleştirildi.

3.2.2.4. ERα Geni İtron I Bölgesinin XbaI Restriksiyon Enzimi İle Kesimi

Amplifikasyon ürünleri %2'lik agaroz jel elektroforezinde yürütülerek 1372 bp'lik bantlar gözlemlendikten sonra PCR ürünleri XbaI restriksiyon enzimi ile kesildi.

Reaksiyon karışımının içeriği

Solüsyon	Miktar
Enzim	1.5 µl (30 ünite)
Buffer (10X)	2.5 µl
PCR ürünü	6 µl
BSA (10 mg/ml)	2.5 µl
dH ₂ O	13 µl

Hazırlanan reaksiyon karışımı 37°C'de 15-16 saat inkübe edilerek XbaI spesifik kesimler gerçekleştirildi.

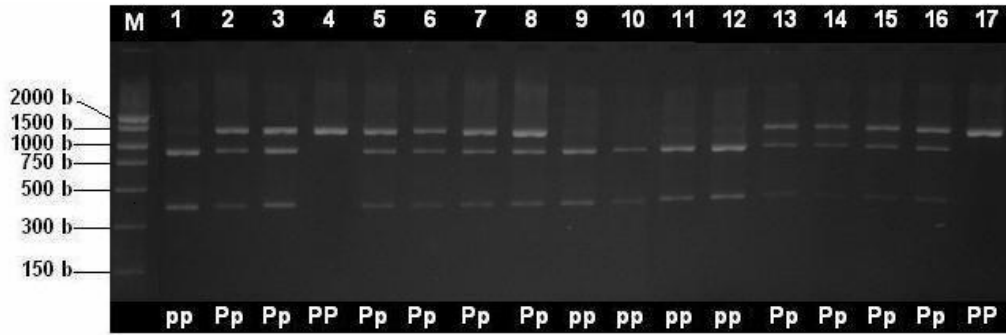
3.2.2.5. Enzim Kesim Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezinde Değerlendirilmesi

Enzim kesim ürünlerini değerlendirmek için %2 lik agaroz jel hazırlandı. %2'lik agaroz jel 200 ml 0.5XTBE içinde 4 g agaroz kaynatılarak hazırlandı ve içine 10 µl (0,25 M) EtBr ilave edildi. Jel tanka dökülerek donması beklendi. 10 µl kesim ürünü, 5 µl marker (50-2000 bp'lik / 100 bp'lik) ve 2 µl bromfenol blue pipetajla

kariştirilerek kuyucuklara yüklendi. Jel 150 voltta 30 dakika elektroforeze tabi tutuldu. Ultraviyole ışık altında enzim kesimine göre oluşan DNA bantları incelendi ve fotoğrafı çekildi.

3.2.2.6. *ERα* Geni İtron I Bölgesinin PvuII Restriksiyon Enzimi İle Kesim Sonucunun Değerlendirilmesi

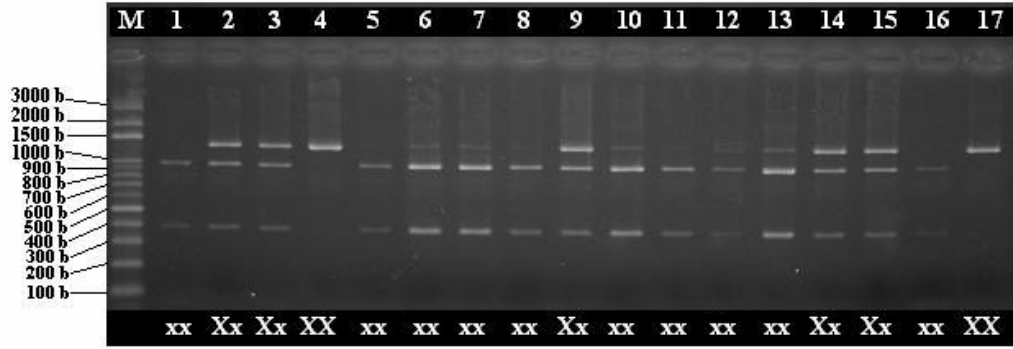
1372 bç'lik PCR ürününün PvuII restriksiyon enzimi ile kesim sonucu, kesim bölgesinin olup olmamasına göre olgular PP (1372 bç), Pp (1372, 936, 436 bç) ve pp (936, 436 bç) olarak değerlendirildi (Şekil 3.2.2.6.1).



Şekil 3.2.2.6.1: PCR ile amplifiye edilen örneklerin *ERα* geni PvuII polimorfizminin belirlenmesi (M: Marker, 1-17: Örnekler)

3.2.2.7. *ERα* Geni İtron I Bölgesinin XbaI Restriksiyon Enzimi İle Kesim Sonucunun Değerlendirilmesi

1372 bç'lik PCR ürününün XbaI restriksiyon enzimi ile kesim sonucu, kesim bölgesinin olup olmamasına göre olgular XX (1372 bç), Xx (1372, 982, 390 bç) ve xx (982, 390 bç) olarak değerlendirildi (Şekil 3.2.2.7.1).



Şekil 3.2.2.7.1: PCR ile amplifiye edilen örneklerin *ERα* geni XbaI polimorfizminin belirlenmesi (M: Marker, 1-17: Örnekler)

3.2.3. COL1A1 Geni Sp1 Polimorfizminin Eş Zamanlı PCR Yöntemiyle Belirlenmesi

COL1A1 geni Sp1 polimorfizmi, COL1A1 SP1 ToolSet™ for LightCycler™ (Genes-4U AG, İsviçre) ve LightCycler® FastStart DNA Master^{PLUS} HybProbe (Roche Diagnostics, Almanya) kullanılarak belirlendi. Elde edilen DNA örnekleri COL1A1 SP1 ToolSet™ for LightCycler™ kiti (Genes-4U) kullanılarak *COL1A1* genindeki Sp1 polimorfizmi (G2046T)'yi içeren 196 bç'lik fragmenti amplifiye edildi. Amplikon, PCR döngülerinin annealing fazında hibridize olan spesifik probolar kullanılarak floresan ile belirlendi.

COL1A1 SP1 ToolSet™ for LightCycler™ kitinin içeriği

Solüsyon	İçerik	Miktar	Kullanım Şekli
OligoTool	Liyofilize mutasyon belirleme probu ve anchor prob ile primerler içerir.	4 tüp x 16 test	Kullanmadan önce 50 µL çözücü eklendi.
Pozitif Kontrol	Liyofilize CT heterozigot DNA	4 tüp	Kullanmadan önce 20 µL çözücü eklendi.
Çözücü	OligoTool / Pozitif Kontrol	1000 µL	Kullanıma hazır.

LightCycler® FastStart DNA Master HybProbe kitinin içeriği

Solüsyon	İçerik	Miktar	Kullanım Şekli
LightCycler DNA Master HybProbe, 10x Konsantre	Taq DNA polimeraz, reaksiyon buffer, dNTP miks ve 10 mM MgCl ₂ içerir.	3 x 64µl	PCR miksi için kullanıma hazır.
25 mM MgCl ₂ Stok Solüsyon		1 x 1 ml	Kullanıma hazır.
PCR Grade H ₂ O		2 x 1 ml	Kullanıma hazır.

3.2.3.1.Reaksiyon Karışımının Hazırlanması ve Örneklerin LightCycler Cihazına Yüklenmesi

Reaksiyon karışımı hazırlanmadan önce LightCycler cihazı açıldı ve cihazın self-test yapması sağlandı. Daha sonra sisteme önceden yüklenmiş olan *COLIA1* geni Sp1 polimorfizmi analizinde kullanılacak olarak protokol seçildi. Hasta listesi girişi yapıldı ve sistem çalışma için hazır duruma getirildi. Reaksiyon karışımı için gerekli olan OligoTool ve kontrol solüsyonu aşağıdaki işlem basamakları uygulanarak hazırlandı.

1. Tüpler açılmadan önce santrifüj edildi.
2. 50 µL çözücü solüsyon OligoTool tüpüne ve 20 µL çözücü solüsyon kontrol tüpüne eklendi.
3. Tüpler tekrar kapatıldı ve vorteks yapıldı.
4. Tüpler açılmadan önce santrifüj edildi.
5. OligoTool ve kontrol solüsyonu hazırlandıktan sonra reaksiyon karışımı hazırlandı.
6. Reaksiyon karışımının hazırlanması için +4°C'de bekletilen soğuk blok üzerinde 1,5 ml'lik reaksiyon tüpü ve hazırlanacak reaksiyon sayısına göre kapillerler yerleştirildi.
7. 1,5 ml'lik reaksiyon tüpünde reaksiyon sayısına göre aşağıda verildiği şekilde reaksiyon karışımı hazırlandı.

Reaksiyon karışımının içeriği

Solüsyon	Miktar
OligoTool	2.8 µL
Çözücü	8 µL
25 mM MgCl ₂	3.2 µL (final 5mM)
LightCycler DNA Master HybProbe, 10x	2 µL
Total Reaksiyon Karışımı	16 µL
Örnek DNA / Pozitif Kontrol / Negatif Kontrol	4 µL
Toplam	20 µL

8. Her kapillere 20 µl reaksiyon karışımı dağıtıldı.
9. Her çalışmada bir negatif ve bir pozitif kontrol kullanıldı.
10. Negatif kontrol için ilk kapillere 4 µl çözücü solüsyon, pozitif kontrol için ise son kapillere pozitif kontrolden 4µl son miktar 20µl olacak şekilde eklendi.
11. Diğer kapillerlere sırasıyla analiz edilecek örnekler 4'er µl dağıtıldı.
12. Her bir kapillere örnek konduktan sonra capping tool kullanılarak kapakları kapatıldı.
13. Kapillerler karusele yerleştirildi ve 700 x g'de 5 sn santrifüj edildi.
14. Karusel LightCycler cihazına yerleştirilerek kapak dikkatlice kapatıldı.
15. Run'a basılarak sistemin aşağıdaki protokole göre analiz işlemine başlaması sağlandı.

LightCycler Ayarları ve Deneysel Protokol

Denatürasyon

Döngü Program Verisi	Değer
Döngü	1
Analiz modu	Yok
Sıcaklık hedefleri	1
Hedef sıcaklık (°C)	95
İnkübasyon süresi (sn)	30
Sıcaklık geçiş oranı (°/sn)	20
İkinci hedef sıcaklık (°C)	0
Basamak boyutu (°C)	0
Basamak gecikmesi (döngü)	0
Yakalama modu	Yok

Amplifikasyon

Döngü Program Verisi	Değer		
Döngü	50		
Analiz modu	Yok		
Sıcaklık hedefleri	1	2	3
Hedef sıcaklık (°C)	95	55	72
İnkübasyon süresi (sn)	5	10	10
Sıcaklık geçiş oranı (°/sn)	20	20	20
İkinci hedef sıcaklık (°C)	0	0	0
Basamak boyutu (°C)	0	0	0
Basamak gecikmesi (döngü)	0	0	0
Yakalama modu	Yok	Tek	Yok

Erime Eğrisi Analiz

Döngü Program Verisi	Değer		
Döngü	1		
Analiz modu	Erime Eğrisi		
Sıcaklık hedefleri	1	2	3
Hedef sıcaklık (°C)	95	40	80
İnkübasyon süresi (sn)	30	180	0
Sıcaklık geçiş oranı (°/sn)	20	20	0.2
İkinci hedef sıcaklık (°C)	0	0	0
Basamak boyutu (°C)	0	0	0
Basamak gecikmesi (döngü)	0	0	0
Yakalama modu	Yok	Yok	Sürekli

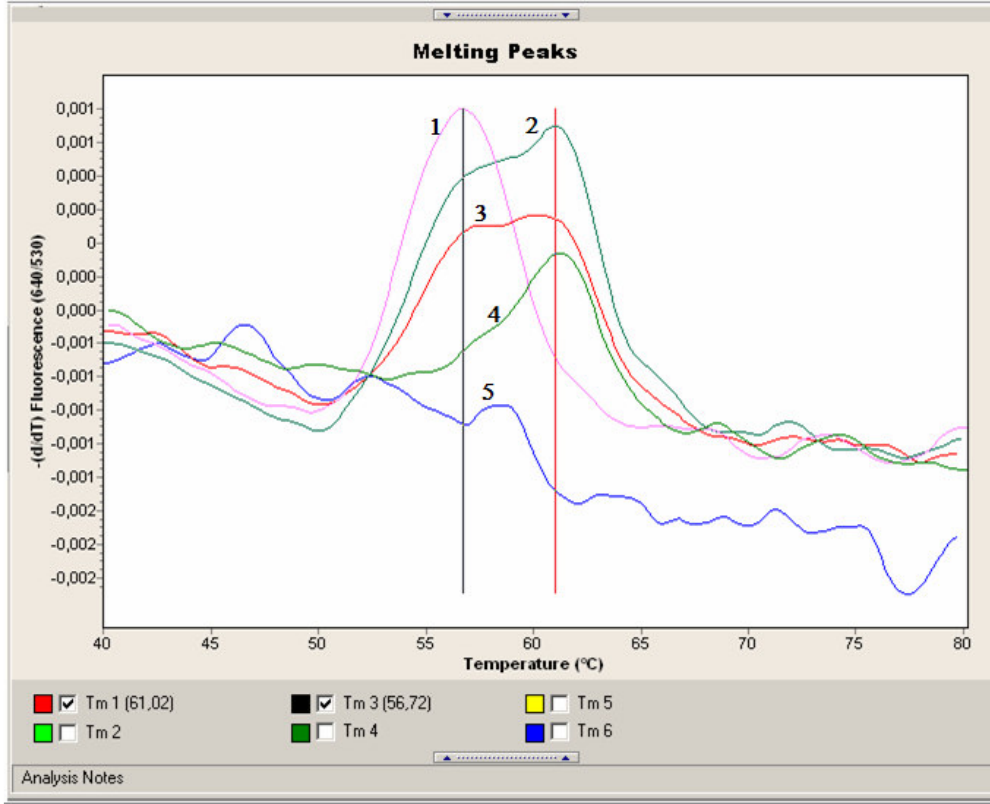
Soğutma

Döngü Program Verisi	Değer
Döngü	1
Analiz modu	Yok
Sıcaklık hedefleri	1
Hedef sıcaklık (°C)	40
İnkübasyon süresi (sn)	30
Sıcaklık geçiş oranı (°/sn)	20
İkinci hedef sıcaklık (°C)	0
Basamak boyutu (°C)	0
Basamak gecikmesi (döngü)	0
Yakalama modu	Yok

16. Analiz işlemi 50 dakikalık döngü sonunda LightCycler'a ait 4.0 analiz programı kullanılarak yapıldı.

17. Bu programa göre *COLIA1* geni Sp1 polimorfizmi genotiplemesi; yabanıl tip için Tm 61.5 °C (± 2,5 °C) ve mutant genotip için Tm 56.7 °C (± 2,5 °C)'deki erime eğrilerine göre yapıldı.

Şekil 3.2.3.1.1'de COL1A1 SP1 ToolSet™ for LightCycler™ kiti ile elde edilmiş bu çalışmaya ait bir sonuç verilmiştir.



Şekil 3.2.3.1.1: COL1A1 geni Sp1 polimorfizmine ilişkin genotiplerin erime eğrisi analizi. 1: Homozigot DNA örneği (ss genotipi) 2: Pozitif kontrol (Ss genotipi) 3: Heterozigot DNA örneği (Ss genotipi) 4: Yabancıl tip DNA örneği (SS genotipi) 5: Negatif kontrol

3.3.Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

İstatistik analizleri, SPSS 15.0 ve MiniTab programları kullanılarak yapıldı. Normal, osteopenik ve osteoporotik olgu gruplarında *ERα* geni PvuII, XbaI ve COL1A1 geni Sp1 polimorfizmlerine ilişkin genotip frekansları χ^2 testi kullanılarak karşılaştırıldı.

Normal, osteopenik ve osteoporotik olgu gruplarında *ERα* geni PvuII, XbaI ve *COL1A1* geni Sp1 polimorfizmlerine ilişkin alel frekansları ikili oran testi kullanılarak karşılaştırıldı.

Farklı genotip gruplarının postmenopozal süre, boy, kilo, vücut kitle indeksi, lomber omurga ve femur boynu KMY değerleri gibi değişkenler ile bağlantısı tek yönlü ANOVA ve Kruskal-Wallis varyans analiz testleri kullanılarak değerlendirildi. $p < 0.05$ 'in altındaki değerler anlamlı değerler olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Bu çalışmada postmenopozal kadın olgularda *ERα* geni PvuII, XbaI ve *COL1A1* geni Sp1 polimorfizmleri bulguları ile kemik mineral yoğunluk ölçümleri bulguları karşılaştırılmıştır. Çalışmaya alınan 126 olguya ait demografik özellikler Tablo 4.1.'de verilmiştir.

Tablo 4.1: Olguların demografik özellikleri

Özellik	Normal Olgu Grubu (ort±SD)	Osteopenik Olgu Grubu (ort±SD)	Osteoporotik Olgu Grubu (ort±SD)
Sayı	30	46	50
Yaş	53.57 ± 5.37	54.98 ± 6.40	58.18 ± 5.98
Menarş Yaşı	13.73 ± 1.41	13.80 ± 1.22	14.04 ± 1.42
Menopoz Yaşı	48.67 ± 4.13	47.24 ± 3.77	48.16 ± 4.67
Postmenopozal Süre	4.87 ± 4.43	7.74 ± 5.86	11.42 ± 6.98
Boy (kg)	156.80 ± 4.24	156.02 ± 4.86	152.84 ± 4.87
Kilo (cm)	79.00 ± 11.42	78.50 ± 11.20	65.24 ± 10.53
VKİ (kg/m²)	32.25 ± 5.09	32.26 ± 4.26	27.91 ± 4.50
Femur boynu KMY (g/cm²)	1.055 ± 0.115	0.873 ± 0.097	0.725 ± 0.090
Femur boynu T skoru	-0.17 ± 0.97	-1.23 ± 0.72	-2.46 ± 0.70
Femur boynu Z skoru	1.02 ± 1.22	-0.14 ± 0.71	-1.05 ± 0.59
Lomber omurga KMY (g/cm²)	1.273 ± 0.164	0.978 ± 0.111	0.808 ± 0.107
Lomber omurga T skoru	0.48 ± 1.38	-1.57 ± 0.77	-2.88 ± 1.07
Lomber omurga Z skoru	1.04 ± 1.68	-0.70 ± 0.97	-1.91 ± 0.84

4.1. *ERα* Geni PvuII Polimorfizminin Genotip ve Alel Frekansı

ERα geninin 1. intronunda yer alan PvuII polimorfizmi açısından insanda PP, Pp ve pp olmak üzere üç genotip mevcuttur. Çalışmamızda *ERα* geninde yer alan söz konusu polimorfizm için normal, osteopenik ve osteoporotik postmenopozal kadınlar değerlendirildi.

ERα geni PvuII polimorfizmine ilişkin genotipleme çalışmasına ait genotip ve alel frekasları her üç grup için de Tablo 4.1.1, Tablo 4.1.3, Tablo 4.1.4 ve Şekil 4.1.1'de verildi.

Normal olgularda, PP genotipine sahip birey sayısı 10 (%33.33), Pp genotipine sahip birey sayısı 18 (%60) ve pp genotipine sahip birey sayısı 2 (%6.7) olarak bulundu (Tablo 4.1.1.).

Osteopenik olgularda, PP genotipine sahip birey sayısı 13 (%28.3), Pp genotipine sahip birey sayısı 20 (%43.5) ve pp genotipine sahip birey sayısı 13 (%28.3) olarak bulundu (Tablo 4.1.1).

Osteoporotik olgularda ise PP genotipine sahip birey sayısı 8 (%16), Pp genotipine sahip birey sayısı 26 (%52) ve pp genotipine sahip birey sayısı 16 (%32) olarak bulundu (Tablo 4.1.1).

Çalışmaya dahil edilen tüm olgularda *ERα* geni PvuII polimorfizminin genotipik dağılımı ise (%24.60) PP, (%50.79) Pp ve (% 24.60) pp olarak bulundu. PP, Pp ve pp genotip frekansları χ^2 testi kullanılarak istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; gruplar arasında pp genotipi açısından, normal kemik yoğunluğuna sahip olgular ile osteopenik ve osteoporotik olgular arasında anlamlı fark bulundu ($p<0,05$).

pp genotip frekansı açısından gruplar kendi aralarında ikişerli olarak ikili oran testi ile değerlendirmeye alındığında, normal olgular ile osteopenik olgular ve normal olgular ile osteoporotik olgular arasında anlamlı fark bulundu (Tablo 4.1.2) ($p<0,05$). Osteopenik ve osteoporotik olgular arasında ise pp genotip frekansı açısından fark bulunmadı ($p>0,05$).

P alel frekansı, normal olgularda %63.33, osteopenik olgularda %50, osteoporotik olgularda %42 bulundu. p alel frekansı ise normal olgularda %36.66, osteopenik olgularda %50 ve osteoporotik olgularda %58 olarak bulundu (Tablo 4.1.3, Tablo 4.1.4).

ERα geni PvuII polimorfizmine ait P ve p alel frekansları ikili oran testi kullanılarak istatistiksel olarak karşılaştırıldığında P ve p alel frekansları açısından normal olgular ile osteoporotik olgular arasında anlamlı fark bulunurken ($p < 0,05$); normal ve osteopenik olgular ile osteoporotik ve osteopenik olgular arasında alel frekansları açısından fark bulunmadı. Osteopenik ve osteoporotik olgular arasında ise alel frekansları açısından fark bulunmadı ($p > 0,05$).

4.2. *ERα* Geni XbaI Polimorfizminin Genotip ve Alel Frekansı

ERα geninin 1. intronunda yer alan XbaI polimorfizmi açısından insanda XX, Xx ve xx olmak üzere üç genotip mevcuttur. Çalışmamızda *ERα* geninde yer alan XbaI polimorfizmi için normal, osteopenik ve osteoporotik postmenopozal kadınlar değerlendirildi.

ERα geni XbaI polimorfizmine ilişkin genotipleme çalışmasına ait genotip ve alel frekansları her üç grup için de Tablo 4.1.1, Tablo 4.1.3, Tablo 4.1.4 ve Şekil 4.1.1'de verildi.

Normal olgularda XX genotipine sahip birey sayısı 6 (%20), Xx genotipine sahip birey sayısı 16 (%53.33) ve xx genotipine sahip birey sayısı 8 (%26.66) olarak bulundu (Tablo 4.1.1)

Osteopenik olgularda XX genotipine sahip birey sayısı 10 (%21.73), Xx genotipine sahip birey sayısı 20 (%43.47) ve xx genotipine sahip birey sayısı 16 (%34.78) olarak bulundu (Tablo 4.1.1)

Osteoporotik olgularda ise XX genotipine sahip birey sayısı 7 (%14), Xx genotipine sahip birey sayısı 27 (%54) ve xx genotipine sahip birey sayısı 16 (%32) olarak bulundu (Tablo 4.1.1)

Çalışmaya dahil edilen tüm olgularda *ERα* geni XbaI polimorfizminin genotipik dağılımı ise %18.25 XX, %50 Xx ve %31.74 xx olarak bulundu.

XX, Xx ve xx genotip frekansları χ^2 testi kullanılarak istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

X alel frekansı, normal olgularda %46.6, osteopenik olgularda %43.4, osteoporotik olgularda %41 bulundu. p alel frekansı ise normal olgularda %53.3, osteopenik olgularda %56.5 ve osteoporotik olgularda %59 olarak bulundu (Tablo 4.1.3, Tablo 4.1.4).

ERα geni XbaI polimorfizmine ait X ve x alel frekansları ikili oran testi kullanılarak istatistiksel olarak karşılaştırıldığında X ve x alelleri açısından normal, osteopenik ve osteoporotik olgular arasında anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

4.3. COL1A1 Geni Sp1 Polimorfizminin Genotip ve Alel Frekansı

COL1A1 geninin 1. intronunda yer alan Sp1 polimorfizmi açısından insanda SS, Ss ve ss olmak üzere üç genotip mevcuttur. Çalışmamızda *COL1A1* geninde yer alan Sp1 polimorfizmi için normal, osteopenik ve osteoporotik postmenopozal kadınlar değerlendirildi.

COL1A1 geni Sp1 polimorfizmine ilişkin genotipleme çalışmasına ait genotip ve alel frekansları her üç grup için de Tablo 4.1.1, Tablo 4.1.3, Tablo 4.1.4 ve Şekil 4.1.1'de verildi.

Normal olgularda SS genotipine sahip birey sayısı 19 (%63.3), Ss genotipine sahip birey sayısı 9 (%30.0) ve ss genotipine sahip birey sayısı 2 (%6.7) olarak bulundu (Tablo 4.1.1).

Osteopenik olgularda SS genotipine sahip birey sayısı 30 (%65.2), Ss genotipine sahip birey sayısı 13 (%28.3) ve ss genotipine sahip birey sayısı 3 (%6.5) olarak bulundu (Tablo 4.1.1).

Osteoporotik olgularda ise SS genotipine sahip birey sayısı 30 (%60.0), Ss genotipine sahip birey sayısı 18 (%36.0) ve ss genotipine sahip birey sayısı 2 (%4.0) olarak bulundu (Tablo 4.1.1).

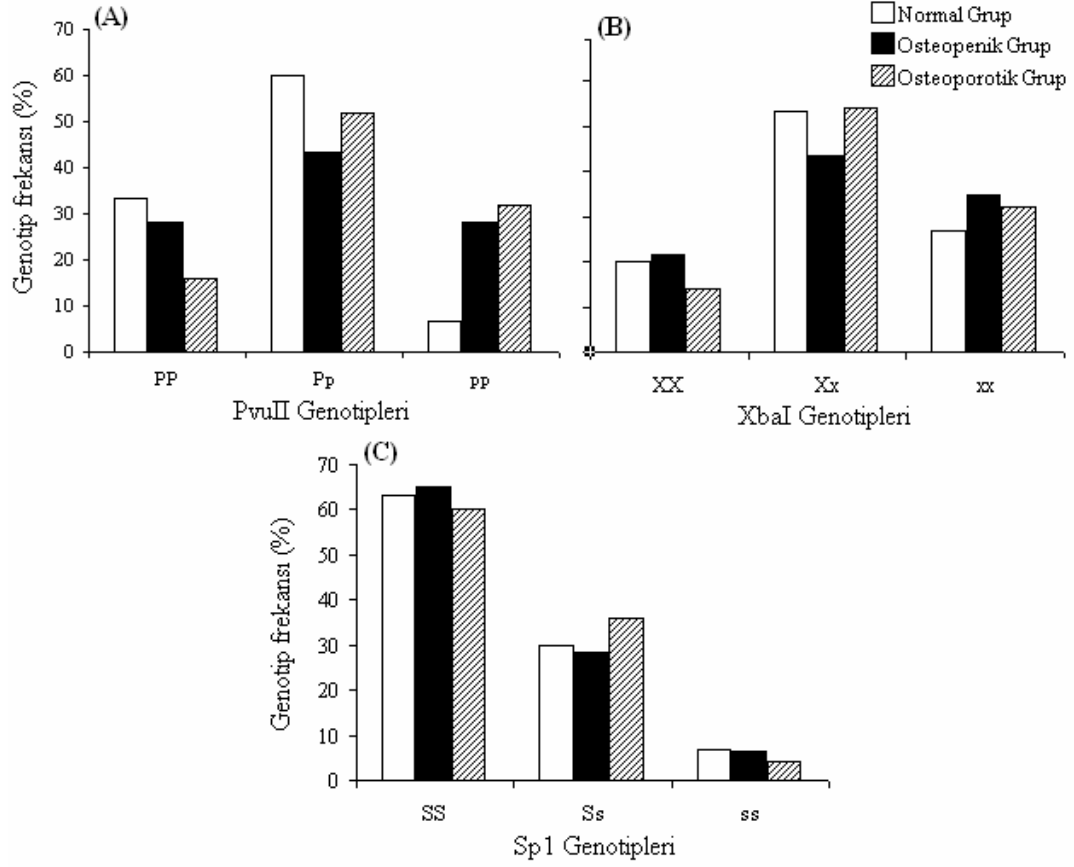
Çalışmaya dahil edilen tüm olgularda *COL1A1* geni Sp1 polimorfizminin genotipik dağılımı ise %62.69 SS, %31.75 Ss ve %5.55 ss olarak bulundu.

SS, Ss ve ss genotip frekansları χ^2 testi kullanılarak istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; gruplar arasında fark bulunmadı ($p>0,05$). S alel frekansı, normal olgularda %78.3, osteopenik olgularda %79.3, osteoporotik olgularda %78.0 bulundu. s alel frekansı ise normal olgularda %21.6, osteopenik olgularda %20.6 ve osteoporotik olgularda %22.0 olarak bulundu (Tablo 4.1.3, Tablo 4.1.4).

COL1A1 geni Sp1 polimorfizmine ait S ve s alel frekansları ikili oran testi kullanılarak istatistiksel olarak karşılaştırıldığında S ve s alelleri açısından normal, osteopenik ve osteoporotik olgular arasında anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

Tablo 4.1.1: Normal, osteopenik ve osteoporotik olgu gruplarında genotip frekanslarının dağılımı

Genotip	Normal Olgu Grubu (n=30) (%)	Osteopenik Olgu Grubu (n=46) (%)	Osteoporotik Olgu Grubu (n=50) (%)	p
PP	10 (33.3)	13 (28.3)	8 (16.0)	0.169
Pp	18 (60.0)	20 (43.5)	26 (52.0)	0.362
pp	2 (6.7)	13 (28.3)	16 (32.0)	0.030
XX	6 (20.0)	10 (21.7)	7 (14.0)	0.594
Xx	16 (53.3)	20 (43.5)	27 (54.0)	0.539
xx	8 (26.7)	16 (34.8)	16 (32.0)	0.783
SS	19 (63.3)	30 (65.2)	30 (60.0)	0.867
Ss	9 (30.0)	13 (28.3)	18 (36.0)	0.698
ss	2 (6.7)	3 (6.5)	2 (4.0)	0.895



Şekil 4.1.1: Normal, osteopenik ve osteoporotik olgu gruplarında genotip frekanslarının dağılımı

Tablo 4.1.2: Normal, osteopenik ve osteoporotik olgu gruplarında pp genotip frekanslarının dağılımı

Genotip	Normal Olgu Grubu (n=30)(%)	Osteopenik Olgu Grubu (n=46)(%)	P
pp	2 (6.7)	13 (28.3)	0.007
	Normal Olgu Grubu (n=30)(%)	Osteoporotik Olgu Grubu (n=50)(%)	
pp	2 (6.7)	16 (32.0)	0.002

Tablo 4.1.3: Normal ve osteopenik olgu gruplarında alel frekanslarının dağılımı

Alel	Normal Olgu Grubu (n=60) (%)	Osteopenik Olgu Grubu (n=92) (%)	P
P	63.3	50.0	0.100
p	36.6	50.0	
X	46.6	43.4	0.699
x	53.3	56.5	
S	78.3	79.3	0.881
s	21.6	20.6	

Tablo 4.1.4: Normal ve osteoporotik olgu gruplarında alel frekanslarının dağılımı

Alel	Normal Olgu Grubu (n=60) (%)	Osteoporotik Olgu Grubu (n=100)(%)	P
P	63.3	42.0	0.007
p	36.6	58.0	
X	46.6	41.0	0.484
x	53.3	59.0	
S	78.3	78.0	0.961
s	21.6	22.0	

4.4. ER α Geni PvuII ve XbaI Polimorfizmlerinin Kemik Mineral Yoğunluk Ölçümü ve Diğer Değişkenler Üzerindeki Etkisi

ER α geni PvuII polimorfizmine ilişkin PP, Pp ve pp genotiplerine göre olguların yaş, boy, VKİ, femur boynu KMY ve lomber omurga KMY değerlerinin dağılımı incelendi.

Elde edilen veriler Tablo 4.4.1’de verildi. Yapılan değerlendirmede yaş, boy, kilo, VKİ ve femur boynu KMY değerleri açısından genotipler arasında anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$).

Lomber omurga KMY değeri açısından PP ve pp genotipleri arasında anlamlı fark bulundu ($p<0.05$). PP genotipine sahip olguların ortalama lomber omurga KMY değeri, pp genotipli olguların ortalama lomber omurga KMY değerinden yüksekti.

ERα geni XbaI polimorfizmine ilişkin XX, Xx ve xx genotiplerine göre olguların yaş, boy, VKİ, femur boynu KMY ve lomber omurga KMY değerlerinin dağılımı incelendi.

Elde edilen veriler Tablo 4.4.2’de verildi. Yapılan değerlendirmede yaş, boy, kilo, VKİ, femur boynu KMY ve lomber omurga KMY değerleri açısından genotipler arasında fark bulunmadı ($p>0.05$).

Tablo 4.4.1: *ERα* geni PvuII polimorfizmi genotiplerine göre olguların yaş, boy, VKİ, femur boynu KMY ve lomber omurga KMY değerlerinin dağılımı

Özellik	PP (n=31) (ort ±SD)	Pp (n=64) (ort ±SD)	pp (n=31) (ort ±SD)	P
Yaş	55.35 ± 5.92	56.09 ± 6.21	56.10 ± 6.84	0.852
Boy (cm)	155.54 ± 4.37	154.81 ± 5.27	154.61 ± 5.12	0.732
Kilo (kg)	75.52 ± 11.49	72.63 ± 13.27	72.71 ± 13.00	0.558
VKİ (kg/m ²)	31.36 ± 4.62	30.26 ± 5.13	30.56 ± 5.10	0.603
	PP (n=31) ort [IQR]	Pp (n=64) ort [IQR]	pp (n=31) ort [IQR]	P
Femur boynu KMY (g/cm ²)	1.000 [1.000-1.000]	1.000 [1.000-1.000]	1.000 [1.000-1.000]	0.224
Lomber omurga KMY (g/cm ²)	1.050 [0.829-1.133]	0.956 [0.855-1.170]	0.855 [0.780- 0.955]	0.046

Tablo 4.4.2: *ERα* geni XbaI polimorfizmi genotiplerine göre olguların yaş, boy, VKİ, femur boynu KMY ve lomber omurga KMY değerlerinin dağılımı

Özellik	XX (n=23) (ort ±SD)	Xx (n=63) (ort ±SD)	xx (n=40) (ort ±SD)	p
Boy (cm)	154.73 ± 4.32	155.00 ± 5.25	154.97 ± 5.07	0.977
Kilo (kg)	74.04 ± 9.96	72.21 ± 13.61	74.78 ± 12.90	0.588
VKİ (kg/m ²)	30.98 ± 4.44	30.00 ± 5.16	31.12 ± 5.08	0.490
Femur boynu KMY (g/cm ²)	0.898 ± 0.134	0.855 ± 0.175	0.838 ± 0.152	0.358
	XX (n=23) ort [IQR]	Xx (n=63) ort [IQR]	xx (n=40) ort [IQR]	p
Yaş	55.00 [51.00-61.00]	55.00 [51.00-60.00]	55.00 [51.00-62.50]	0.995
Lomber omurga KMY (g/cm ²)	1.006[0.775-1.139]	0.942[0.828-1.119]	0.921[0.798-1.107]	0.843

4.5. COL1A1 Geni Sp1 Polimorfizminin Kemik Mineral Yoğunluk Ölçümü ve Diğer Değişkenler Üzerindeki Etkisi

COL1A1 geni Sp1 polimorfizmine ilişkin SS, Ss ve ss genotiplerine göre olguların yaş, boy, VKİ, femur boynu KMY ve lomber omurga KMY değerlerinin dağılımı incelendi.

Elde edilen veriler Tablo 4.5.1’de verildi. Yapılan değerlendirmede yaş, boy, kilo, VKİ, femur boynu KMY ve lomber omurga KMY değerleri açısından genotipler arasında fark bulunmadı ($p>0.05$).

Tablo 4.5.1: *COL1A1* geni Sp1 polimorfizmi genotiplerine göre olguların yaş, boy, VKİ, femur boynu KMY ve lomber omurga KMY değerlerinin dağılımı

Özellik	SS (n=79) (ort ±SD)	Ss (n=40) (ort ±SD)	ss (n=7) (ort ±SD)	p
Kilo (kg)	74.39 ± 12.66	72.03 ± 13.31	69.29 ± 10.42	0.437
VKİ (kg/m ²)	30.77 ± 4.93	30.30 ± 5.39	29.53 ± 4.11	0.765
Femur boynu KMY (g/cm ²)	0.855 ± 0.146	0.865 ± 0.194	0.862 ± 0.167	0.954
	SS (n=79) ort [IQR]	Ss (n=40) ort [IQR]	ss (n=7) ort [IQR]	p
Yaş	54.00 [51.00-60.00]	55.50[51.00-61.00]	60.00[55.00-66.00]	0.150
Boy (cm)	155.00[152.00-158.00]	154.00[151.00-159.00]	152.00[151.00-156.00]	0.379
Lomber omurga KMY (g/cm ²)	0.930[0.805-1.119]	0.954[0.782-1.133]	0.935[0.775-1.107]	0.974

5. TARTIŞMA

Osteoporoz, düşük kemik kütlesi ve kırılabilirliğin artmasıyla kemik dokusunun mikromimari yapısında meydana gelen hasar oluşması şeklinde tanımlanan yaygın bir iskelet bozukluğudur (29). Günümüzde osteoporoz; genetik yapının, beslenme faktörleri, hormonlar ve çevresel etkenler ile etkileşerek meydana getirdiği multifaktöriyel bir hastalık olarak değerlendirilmektedir (28). Osteoporozun en önemli göstergelerinden biri, KMY'nin azalmasıdır. KMY değerinin %60-80'i genetik faktörler, %20-40'ı çevresel faktörler tarafından kontrol edilmektedir (59).

Nitekim kompleks bir patofizyolojiye sahip olan osteoporozun moleküler mekanizmalarının ve genetik temelini aydınlatılmasına yönelik yapılan çalışmalarda çeşitli aday genlerdeki polimorfizmlerin KMY üzerine olan etkisi araştırılmıştır (5, 12). Bu çalışmada, postmenopozal kadınlarda *ERα* geni PvuII, XbaI ve *COL1A1* geni Sp1 polimorfizmleri ile olguların yaş, boy, kilo, VKİ, femur boynu KMY ve lomber omurga KMY değerleri arasındaki ilişki araştırılmıştır.

Bu çalışma; ülkemizde postmenopozal kadınlarda KMY değerleri üzerine çeşitli polimorfizmlerin etkilerinin değerlendirildiği diğer çalışmalardan, *ERα* geni PvuII, XbaI ve *COL1A1* geni Sp1 polimorfizmlerinin birlikte değerlendirilmesi yönüyle farklıdır. Yine yapılan literatür taramasında *COL1A1* geni Sp1 polimorfizminin PCR-RFLP yöntemiyle belirlendiği görülmüştür. Çalışmamızda ise söz konusu polimorfizm eş zamanlı PCR yöntemi kullanılarak belirlenmiştir.

5.1. *ERα* Geni PvuII ve XbaI Polimorfizmleri İle Osteoporoz Arasındaki İlişki

Östrojen reseptörü; ligand bağımlı transkripsiyon faktörlerinin süper ailesinden olup, bir nükleer hormon reseptörüdür. *ERα* ve *ERβ* olmak üzere iki farklı çeşidi tanımlanmıştır (29). Bu reseptörlerden *ERα*'yı kodlayan insan *ERα* geni kromozom 6q25-27'de yer almaktadır (32).

ERα geninde pek çok polimorfik bölgenin varlığı rapor edilmiştir. (29). Bu polimorfizmler arasında sıklıkla çalışılanlardan ikisi intron I'deki PvuII ve XbaI polimorfizmleridir. Farklı çalışmalarda, bu polimorfizmler, aralarında osteoporozun da bulunduğu pek çok farklı hastalık ile ilişkilendirilmiştir. (10, 68, 89).

Çalışmamızda kemik mineral yoğunluğu açısından 30 normal, 46 osteopenik ve 50 osteoporotik postmenopozal kadın olgu *ERα* geni PvuII ve XbaI polimorfizmleri açısından değerlendirilmiştir.

Elde ettiğimiz verilere göre tüm olgularda *ERα* geni PvuII polimorfizminin genotipik dağılımı PP (%24.60), Pp (%50.79) ve pp (%24.60) olarak bulundu. *ERα* geni XbaI polimorfizminin genotipik dağılımı ise XX (%18.25), Xx (%50) ve xx (%31.74) olarak bulundu.

Genotip dağılımları açısından Efstathiadou ve arkadaşlarının Yunanistan'da yaptığı çalışma bizim araştırma sonuçlarımız ile uyumludur. Söz konusu çalışmada olguların genotip frekansları PvuII polimorfizmi için PP (%27.6), Pp (%44.7), pp (%27.6); XbaI polimorfizmi için XX (%16.4), Xx (%54.6), xx (%28.9)'dur (24).

Diğer taraftan yapılan bazı çalışmalarda elde edilen sonuçlar genotip frekansları dikkate alındığında çeşitlilik göstermektedir. Örneğin; Bagger ve arkadaşlarının Danimarka popülasyonunda postmenopozal kadınlar üzerine yaptıkları çalışma sonuçlarına göre XbaI polimorfizmi için genotip frekansları XX (%11.3), Xx (%44.3), xx (%44.3) ve PvuII polimorfizmi açısından değerlendirildiğinde genotip frekansları PP (%22.9), Pp (%46.9), pp (%30.3) olup sonuçlarımızdan farklı bir dağılım göstermektedir (4).

Jakimiuk ve arkadaşlarının Polonya'da, 64 postmenopozal kadın üzerinde yaptıkları çalışmada olguların toplamında genotip frekansları *ERα* geni PvuII polimorfizmi için PP (%17.2), Pp (%50), pp (%32.8); XbaI polimorfizmi için XX (%6.25), Xx (%34.4), xx (%59.4)'tür (43).

Kobayashi ve arkadaşlarının Japonya'da 286 postmenopozal kadın üzerinde yaptığı çalışmada olguların toplamında PvuII polimorfizmi için genotip frekansları PP (%17.8), Pp (%52.8), pp (%29.4); XbaI polimorfizmi için XX (%3.9), Xx (%31.1), xx (%65.0)'tir (50).

177 postmenopozal kadın üzerinde İspanya'da yapılan bir çalışmada olguların toplamında XbaI polimorfizmi için genotip frekansları XX (%15.3), Xx (%52.3), xx (%32.4), PvuII polimorfizmi açısından genotip frekanslarını PP (%27.8), Pp (%48.9), ve pp (%23.3) olarak belirtilmiştir (5).

Olgu gruplarını PvuII genotip frekansı açısından değerlendirdiğimizde normal olgularda, genotip frekansları PP (%33.33), Pp (%60), pp (%6.7); osteopenik olgularda PP (%28.3), Pp (%43.5), pp (%28.3) ve osteoporotik olgularda ise PP (%16), Pp (%52) ve pp (%32) olarak bulundu. XbaI genotip frekansı açısından değerlendirdiğimizde normal olgularda, genotip frekansları XX (%20), Xx (%53.3), xx (%26.7); osteopenik olgularda XX (%21.7), Xx (%43.5), xx (%34.8) ve osteoporotik olgularda ise XX (%14), Xx (%54) ve xx (%32) olarak bulundu.

Mitra ve arkadaşlarının Hindistan'da yaptıkları bir çalışmada, PvuII polimorfizmi açısından osteoporotik olgular ile normal olguları karşılaştırdıklarında PP genotip frekansının normal olgularda anlamlı düzeyde yüksek, pp genotip frekansının ise osteoporotik olgularda anlamlı düzeyde yüksek olduğu bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda PvuII polimorfizmine ait genotip frekansları ile ilgili elde ettiğimiz sonuçlar Mitra ve arkadaşlarının çalışması ile uyumludur. Bu çalışmada XbaI polimorfizmi açısından osteoporotik olgular ile normal olguları karşılaştırdıklarında, XX genotip frekansının normal olgularda anlamlı düzeyde yüksek, xx genotip frekansının ise osteoporotik olgularda anlamlı düzeyde yüksek olduğu bildirilmiştir (70). Bizim çalışmamızda yer alan normal ve osteoporotik olgularda XbaI polimorfizmine ait genotip frekanslarının dağılımı söz konusu çalışma ile benzerlik göstermekle birlikte gruplar arasında fark belirlenmemiştir.

Yine Mitra ve arkadaşlarının çalışmasında XbaI polimorfizmine ait alel frekanslarının gruplar arasındaki dağılımını değerlendirdiklerinde; normal kemik mineral yoğunluğuna sahip olgularda X alel frekansı, osteoporotik olgularda ise x alel frekansının anlamlı düzeyde yüksek bulunduğu bildirilmiştir (70). Çalışmamızda ise bu çalışmadan farklı olarak gruplar arasında X ve x alel frekanslarının dağılımı arasında fark bulunmamıştır. Mitra ve arkadaşları PvuII polimorfizmine ait alel frekanslarının gruplar arasındaki dağılımını değerlendirdiklerinde fark bildirmemiştir (70). Bizim çalışmamızda ise normal olgularda P, osteoporotik olgularda ise p alel frekansları anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur.

Tablo 5.1.1'de farklı populasyonlarda postmenopozal kadın olgulardaki *ERα* geni PvuII ve XbaI genotip frekanslarının dağılımı verilmiştir.

Çalışmamızda *ERα* geni PvuII ve XbaI polimorfizmine ilişkin genotiplerine göre olguların yaş, boy, VKİ, femur boynu KMY ve lomber omurga KMY değerlerinin dağılımı incelendi. Yapılan değerlendirmede PvuII polimorfizmine ait genotipler arasında yaş, boy, kilo, VKİ ve femur boynu KMY değerleri açısından fark yoktu. Diğer taraftan PP genotipine sahip olguların lomber omurga ortalama KMY değeri pp genotipli olguların lomber omurga ortalama KMY değerinden anlamlı düzeyde yüksekti. XbaI polimorfizmi dikkate alındığında ise söz konusu değişkenler açısından genotipler arasında fark yoktu.

Mitra ve arkadaşları tarafından Hindistan'da yapılan bir çalışmada *ERα* geni PvuII polimorfizmi için lomber omurga KMY ve femur boynu KMY değerleri karşılaştırıldığında PP ve Pp genotipli olguların KMY değerlerinin pp genotipli olgularinkinden anlamlı düzeyde yüksek olduğu bildirilmiştir (70). Nitekim çalışmamızda da bu çalışma ile uyumlu olarak PP genotipine sahip olguların lomber omurga ortalama KMY değeri pp genotipli olguların lomber omurga ortalama KMY değerinden anlamlı düzeyde yüksekti

Bizim çalışmamız ile Mitra ve arkadaşlarının sonuçları *ERα* geni PvuII ve XbaI polimorfizmi ile yaş ve VKİ değerlerinin karşılaştırılması açısından paralellik

göstermektedir. Her iki çalışmada da genotipler arasında söz konusu değişkenler açısından fark bulunmamıştır (70).

Tablo 5.1.1. Ükelere göre postmenopozal kadın olgulardaki *ERα* geni PvuII ve XbaI genotip frekanslarının dağılımı

Ülke	Olgu Sayısı	Yaş (ort)	PP (%)	Pp (%)	pp (%)	XX (%)	Xx (%)	xx (%)	Kaynak
Çalışmamız	126	55.6	24.6	50.79	24.6	18.25	50	31.74	
Yunanistan	154	54.2	27.6	44.7	27.6	16.4	54.6	28.9	Efstathiadou ve ark. 2001
Danimarka	499	58.5	22.9	46.9	30.3	11.3	44.3	44.3	Bagger ve ark. 2000
Polonya	64	55	17.2	50	32.8	6.25	34.4	59.4	Jakimiuk ve ark. 2007
Japonya	286	59.5	17.8	52.8	29.4	3.9	31.1	65.0	Kobayashi ve ark. 2002
İspanya	176	56.1	27.8	48.9	23.3	15.3	52.3	32.4	Bandres ve ark. 2005

Çalışma sonuçlarımız Efsthadiou ve arkadaşlarının Yunanistan'da 154, Bandres ve arkadaşlarının İspanya'da 177 postmenopozal kadın üzerinde yaptıkları araştırmaların verileri ile uyumlu değildir. Söz konusu çalışmalarda PvuII ve XbaI polimorfizmleri ile KMY değerleri arasında fark bulunmamıştır (5, 24).

Albagha ve arkadaşlarının İngiltere'de yaptığı çalışmanın sonuçları bizim çalışmamız ile XbaI polimorfizminin yaş, boy, kilo, lomber omurga ve femur boynu KMY değerleri üzerindeki etkisi açısından uyum gösterirken; PvuII polimorfizmi açısından uyum göstermemektedir. Söz konusu araştırmada PvuII polimorfizmi ile yaş, boy, kilo, VKİ, lomber omurga ve femur boynu KMY değerleri arasında fark belirtilmemiştir (2).

2003 yılında Zhang ve arkadaşlarının Çin'de 261 postmenopozal olguda yaptığı çalışmada, *ERα* geninin PvuII ve XbaI polimorfizmleri ile lomber omurga KMY değerleri arasındaki farkın önemsiz olduğu belirtilmiştir (99). Bizim çalışmamızda ise PvuII polimorfizmi PP genotipine sahip olguların lomber omurga

ortalama KMY değeri pp genotipli olguların lomber omurga ortalama KMY değerinden anlamlı düzeyde yüksekti

Bagger ve arkadaşları tarafından 2000 yılında Danimarkalı 499 postmenapozal kadın üzerinde yapılan araştırmada olguların yaş, boy, femur boynu KMY ve lomber omurga KMY değerlerinin dağılımı incelenmiştir. Çalışmada bizim sonuçlarımızdan farklı olarak *ERα* geninin PvuII ve XbaI polimorfizmleri ile olguların boy ortalamaları arasında anlamlı fark bulunduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada söz konusu polimorfizmler ile lomber omurga KMY ve femur boynu KMY değerleri arasında ise anlamlı fark bulunmamıştır (4).

Salmen ve arkadaşlarının Finlandiya’da yaptıkları bir çalışmada bizim çalışmamızdan farklı olarak *ERα* geninin PvuII polimorfizmi ile lomber omurga KMY değeri arasındaki farkın önemsiz olduğu belirtilmiştir (82).

Bizim çalışmamıza benzer olarak Han ve arkadaşlarının Kore’deki çalışmasında yaş, boy, kilo, lomber omurga ve femur boynu KMY değerleri ile PvuII ve XbaI polimorfizmlerine ait genotip grupları arasında fark bulunmadığı belirtilmiştir (35). Bizim çalışmamız söz konusu çalışmadan PvuII polimorfizmi PP ve pp genotipleri arasında lomber omurga KMY değerinin anlamlı düzeyde farklı olması ile ayrılmaktadır.

Kobayashi ve arkadaşları tarafından Japonya’da yapılan bir çalışmada *ERα* geni PvuII ve XbaI polimorfizmleri ile olguların yaş, VKİ, ve lomber omurga KMY değerlerinin dağılımı incelenmiş ve genotipler arasında söz konusu değişkenler açısından fark olmadığı belirtilmiştir (50).

Sonuç olarak çalışmamızda elde edilen veriler PvuII polimorfizmi pp genotipli olguların lomber omurga ortalama KMY değerinin diğer genotiplerden daha düşük olduğunu; XbaI polimorfizminin ise KMY üzerinde etkisi olmadığını göstermiştir.

Bu polimorfizmler ile KMY değerleri arasındaki ilişki üzerine yapılan çalışmalar birbirinden farklı sonuçlar rapor etmiştir. PvuII ve XbaI polimorfizmleri ile KMY değerleri arasındaki asosiyasyon bazı çalışmalarda gösterilmiş olsa da bu ilişkinin moleküler mekanizmaları halen net olarak açıklanamamıştır. Osteoporoz patogenezi bu polimorfizmlerin katkısının ne yönde ve hangi moleküler mekanizmalar ile olduğunu ortaya çıkartmak bundan sonraki çalışmaların amacı olacaktır. PvuII ve XbaI polimorfizmleri ile birlikte KMY üzerine etki ettiği düşünülen diğer aday genlerin de değerlendirildiği geniş kapsamlı çalışmalar; genetik yapının osteoporoz üzerindeki fonksiyonel moleküler sonuçlarını tanımlayacak ve bu polimorfizmlerin birbirleriyle ve osteoporotik fenotipe sebep olan çevre ile nasıl bir etkileşim içinde olduklarını ortaya çıkaracaktır.

5.2. COL1A1 Geni Sp1 Polimorfizmi İle Osteoporoz Arasındaki İlişki

Kemik dokunun major proteini olan tip I kollajeni kodlayan *COL1A1* geni kromozom 17q21-22'de lokalizedir (81). *COL1A1* geni, kemik yoğunluğunun genetik olarak düzenlenmesinde önemli aday genlerdendir (13).

COL1A1 geni osteoporoz için en önemli aday genlerden biri olup, osteoporoz ile arasındaki ilişkinin aydınlatılması için birçok çalışma yapılmıştır (5, 24). Yapılan bazı çalışmalarda genin birinci intronundaki Sp1 transkripsiyon faktörünün bağlanma bölgesinde, 1240. pozisyonda yer alan G→T değişikliğinin (Sp1 polimorfizmi) düşük KMY'ye ve osteoporotik kırıklar için artmış riske neden olduğu bildirilmiştir (24, 91). Bununla birlikte bu ilişki tüm popülasyon çalışmalarında gözlenmemiştir. Bazı etnik gruplarda söz konusu polimorfizme rastlanmazken (34, 71), diğer çalışmalarda bu polimorfizm ile KMY değerleri arasında ilişki bulunmamıştır (5, 37).

Fonksiyonel çalışmalar bu polimorfizmin, DNA molekülündeki Sp1 transkripsiyon faktörünün tanıma bölgesini değiştirdiğini ve bu durumun *COL1A1* transkripsiyonunun, kollajen protein üretiminin ve kemiğin biyokimyasal özelliklerinin bozulması ile ilişkili olduğunu göstermiştir (65). Yapılan bir çalışmada

bu polimorfizm sonucunda Sp1'in artmış bağlanma affinitesi nedeniyle kollajen $\alpha 1(I)$ zincirinin $\alpha 2(I)$ zincirine göre daha fazla üretilmesi sonucunda kollajenin yapısındaki $\alpha 1(I)/\alpha 2(I)$ zincir oranının değişmesiyle kemik dokunun dayanıklılığının bozulabileceği belirtilmiştir. Aynı çalışmada Sp1 polimorfizminin kemik kalitesi ve kantitasinde azalma ile ilişkili olan mekanizmaları etkileyerek osteoporotik kırıklara yol açan fonksiyonel bir genetik varyant olduğu gösterilmiştir (65).

COL1A1 geninin 1. intronunda yer alan Sp1 polimorfizmi açısından insanda SS, Ss ve ss olmak üzere üç genotip mevcuttur. Çalışmamızda *COL1A1* geninde yer alan Sp1 polimorfizmi için normal, osteopenik ve osteoporotik postmenopozal kadınlar değerlendirildi.

Çalışmamızda tüm olgularda *COL1A1* geni Sp1 polimorfizminin genotipik dağılımı ise SS (%62.69), Ss (%31.75) ve ss (%5.55) olarak bulundu. Ülkemizde yapılan bir çalışmada da bizim çalışmamızda olduğu gibi *COL1A1* geni Sp1 polimorfizminin genotipik dağılımı SS (%72), Ss (%22) ve ss (%6) olarak bulunduğu bildirilmiştir (86).

Keen ve arkadaşlarının İngiltere'de 185 postmenopozal kadın üzerinde yaptıkları çalışmada *COL1A1* geni Sp1 polimorfizmi açısından genotip frekanslarını SS (%61.1), Ss (%36.2), ve ss (%2.7) olarak belirtmişlerdir (46). Çek Cumhuriyeti'nde yapılan bir çalışmada *COL1A1* geni Sp1 polimorfizmi açısından genotip frekanslarını SS (%65), Ss (%32), ve ss (%3) olarak belirtmişlerdir (97). Çalışmamızla uyumlu olan bir diğer çalışma da İspanya'da yapılmış olup, *COL1A1* geni Sp1 polimorfizmi açısından genotip frekansları SS (%56.5), Ss (%36.7), ve ss (%6.8) olarak belirtilmiştir (5).

Efstathiadou ve arkadaşlarının Yunanistan'da yaptıkları çalışmada *COL1A1* geni Sp1 polimorfizmi açısından genotip frekanslarını SS (%63.6), Ss (%27.9), ve ss (%8.4) olarak bildirilmiştir (24). Bu dağılım çalışmamızda elde ettiğimiz Sp1 polimorfizmi dağılımı ile benzerlik göstermektedir.

Japonya, Kore ve Çin'de yapılan çalışmalarda ise *COL1A1* geni Sp1 polimorfizmi gözlenmemiştir (34, 61, 71).

Tablo 5.1.2 farklı popülasyonlarda postmenopozal kadın olgulardaki *COL1A1* geni Sp1 genotip frekansının dağılımı verilmiştir.

Olgu gruplarını genotip frekansları açısından değerlendirdiğimizde normal olgularda, SS (%63.3), Ss (%30.0), ss (%6.7); osteopenik olgularda SS (%65.2), Ss (%28.3), ss (%6.5) ve osteoporotik olgularda SS (%60.0), Ss (%36.0) ve ss (%4.0) olarak bulundu. Hubacek ve arkadaşlarının Çekoslovakya'da yaptığı çalışmada çalışmamızla uyumlu şekilde Sp1 polimorfizmi açısından genotip frekansları osteoporotik olgularda SS (%64.0), Ss (%32.0), ve ss (%5); normal olgularda SS (%64.9), Ss (%33.1), ve ss (%2) olarak rapor edilmiştir (46) Her iki çalışmada da gruplar arasında genotip frekansları açısından fark bulunmamıştır.

Tablo 5.1.2 Ükelere göre postmenopozal kadın olgulardaki *COL1A1* geni Sp1 genotip frekanslarının dağılımı

Ülke	Olgu Sayısı	Yaş (ort)	SS (%)	Ss (%)	ss (%)	Kaynak
Çalışmamız	126	55.6	62.69	31.75	5.55	
Türkiye	50	56.7	72	22	6	Şahin, 1999
İngiltere	185	54.3	61.1	36.2	2.7	Keen ve ark. 1999
Çek Cumhuriyeti	108	62.5	65	32	3	Zajickova ve ark. 2002
İspanya	176	56.1	56.5	36.7	6.8	Bandres ve ark. 2005
Yunanistan	154	54.2	63.6	27.9	8.4	Efstadhiadou ve ark. 2001
Kore	200	54.7	100	0	0	Han ve ark. 1999
Japonya	404	72.4	100	0	0	Nakajima ve ark. 1999
Çin	450	64.5	100	0	0	Lau ve ark. 2004

Çalışmamızda *COL1A1* geni Sp1 polimorfizmine ilişkin genotiplere göre olguların yaş, boy, VKİ, lomber omurga ve femur boynu KMY değerlerinin dağılımı

incelendi. Yapılan değerlendirmede Sp1 polimorfizmine ait genotipler arasında yaş, boy, kilo, VKİ, lomber omurga ve femur boynu KMY değerleri açısından fark yoktu.

ek Cumhuriyeti ve İspanya'da yapılan bazı çalışmalarda çalışmamızla uyumlu olarak; Sp1 polimorfizmi genotip grupları arasında lomber omurga ve femur boynu KMY değerleri açısından fark bulunmadığı bildirilmiştir (5, 97). Nitekim Hubacek ve arkadaşları, Hustmayer ve arkadaşları ile Liden ve arkadaşları da yaptıkları çalışmalarda postmenopozal kadınlarda ortalama KMY değerleri ile Sp1 polimorfizmi arasında ilişki bulmadıklarını rapor etmişlerdir (40, 42, 63). Yine Ülkemizde yapılan bir çalışmada da bizim sonuçlarımızla uyumlu olarak *COL1A1* geni Sp1 polimorfizmi genotipleri arasında lomber omurga ve femur boynu KMY değerleri açısından fark bulunmadığı bildirilmiştir (86).

Heegaard ve arkadaşları da Danimarka'lı 133 postmenopozal kadın üzerinde yaptıkları çalışmada bizim çalışmamıza benzer olarak yaş, boy, kilo, lomber omurga ve femur boynu KMY değerleri açısından Sp1 polimorfizmi genotipleri arasında fark bulunmadığını bildirmişlerdir (37). Bernad ve arkadaşlarının çalışmasında da Sp1 polimorfizmi genotipleri arasında söz konusu değişkenler açısından fark bulunmamıştır (8).

Efstathiadou ve arkadaşlarının Yunanistan'da yaptıkları çalışmada ortalama KMY değerleri açısından Sp1 polimorfizmi değerlendirildiğinde ss genotipli olguların ortalama KMY değerinin SS ve Ss genotipli olgulara göre daha düşük olduğu belirtilmiş ve aradaki fark anlamlı bulunmuştur (24). Avrupada yapılan diğer bazı çalışmalar da Sp1 polimorfizmi ile KMY değeri ilişkisi açısından Efstathiadou ve arkadaşlarının bulduğu sonuçlar ile uyum göstermektedir (31, 91).

Grant ve arkadaşları 1996'da Sp1 polimorfizmi ile düşük KMY değerleri arasında ilişki rapor etmişlerdir. Daha sonra Uitterlinden ve arkadaşları ise s aleli taşıyan kadınlarda düşük lomber omurga KMY ve femur boynu KMY değerlerini bulduklarını bildirmişlerdir. Bununla birlikte diğer çalışmalar bu ilişkiyi bulmamıştır. Bu alışma grubunda da KMY ve *COL1A1* genotipi arasında bir ilişki saptanmadı. Ancak Uitterlinden ve arkadaşları KMY ile S ve s alelleri arasındaki ilişkinin yaşla

birlikte belirgin hale geldiğine dikkat çekmişlerdir. Nitekim söz konusu çalışmada KMY'deki anlamlı fark yalnızca 70-80 yaş arası örneklerde ortaya konmuştur (31, 91). Bu kapsamda bizim çalışmamızda kullandığımız olgu grubundaki yaş aralığı bu ilişkiyi ortaya koymada yetersiz kalmış olabilir.

Sonuç olarak *COL1A1* geni Sp1 polimorfizminin ortalama KMY değerleri üzerinde etkisi olduğunu gösteren çalışmalar olmasına rağmen bu ilişki henüz tam olarak açıklanamamıştır. Ayrıca *COL1A1* gen regülasyonu ve protein üretimi üzerine Sp1 polimorfizminin etkileri ve moleküler mekanizmaları da tam olarak bilinmemektedir (65). Spesifik popülasyonlarda Sp1 polimorfizmi ile kemik kitlesi ve kırık riskini etkileyen diğer polimorfizmlerin etkileşebilmesi olasıdır. Bu durumu aydınlatmak için farklı popülasyonlarda yeni çalışmalar yapılmalıdır. Bu çalışmalar belli özellikteki olgu grupları üzerinde, geniş katılımlı olarak yapılmalı ve diğer polimorfizmlerin Sp1 den daha geniş etkilere neden olabileceği olasılığı göz ardı edilmemelidir.

6. SONUC ve ÖNERİLER

Bu çalışmada multifaktöryel bir hastalık olan osteoporoz üzerine *ERα* geni PvuII, XbaI ve *COLIA1* geni Sp1 polimorfizmlerinin etkisi; KMY değeri ile söz konusu polimorfizmlerin ilişkisi ve bu polimorfizmlerin olgu grupları arasındaki genotip ve alel frekanslarının dağılımı değerlendirilerek araştırılmıştır.

Çalışmamızın verileri doğrultusunda:

1. *ERα* geni PvuII polimorfizmi değerlendirildiğinde pp genotip frekansının normal olgularda, osteopenik ve osteoporotik olgulardan anlamlı düzeyde düşük,
2. *ERα* geni PvuII polimorfizmine ait P ve p alel frekansları değerlendirildiğinde osteoporotik olguların p alel frekansı normal olgulardan anlamlı düzeyde yüksek,
3. Ortalama lomber omurga KMY değeri ile genotipler arasındaki ilişkiye bakıldığında; PP genotipine sahip olgularda KMY değerinin pp genotipli olguların KMY değerinden anlamlı düzeyde yüksek olduğu,
4. KMY değerleri üzerine *ERα* geni XbaI ve *COLIA1* geni Sp1 polimorfizmlerinin etkisi olmadığı ve
5. *ERα* geni XbaI ve *COLIA1* geni Sp1 polimorfizmlerine ait genotip ve alel frekansı dağılımları açısından fark olmadığı belirlendi.

Çalışma sonuçlarımız olgu grubumuzdaki postmenopozal kadınlarda ortalama lomber omurga KMY değeri ile *ERα* geni PvuII polimorfizminin ilişkili olduğunu, *ERα* geni XbaI ve *COLIA1* geni Sp1 polimorfizmlerinin ise KMY değerleri ile ilişkili olmadığını göstermiştir. Gelecekte osteoporozun moleküler temelini daha net olarak anlaşılması için geniş populasyon serilerinde birçok aday gen ve polimorfizmlerin birlikte değerlendirildiği yeni çalışmaların yapılması gerektiği kanaatindeyiz. Çünkü osteoporoz gelişiminde etkili olan genetik ve çevresel risk faktörlerinin daha iyi tanınması ile hastalığın erken tanısı, dolayısıyla kronik sakatlıkların önlenmesi ve hastalığın tedavisinde önemli gelişmelere katkıda bulunmuş olacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. Aerssens, J., Dequeker, J., Mbuyi-Muamba, J.M., 1994, Bone tissue composition: biochemical anatomy of bone, *Clin Rheumatol*, Dec;13, Suppl 1, 54-62 p.
2. Albagha, O.M.E., Mcguigan, F.E.A., Reid, D.M., Ralston, S.H., 2001, Estrogen Receptor A Gene Polymorphisms And Bone Mineral Density: Haplotype Analysis in Women from the United Kingdom, *Journal of Bone And Mineral Research*, 16, 1, 128-134 p.
3. Altay, Z.E., 2000, Kemiğin Yapısal Özellikleri, Fizyolojik Fonksiyonları ve Osteoporozdaki Değişimi, In: Göksoy T., Ed, Osteoporozda Tanı ve Tedavi, Özlem Grafik Matbaacılık, İstanbul, 13-31s.
4. Bagger, Y.Z., Jorgensen, H.L., Heegaard, A.M., Bayer, L., Hansen, L., Hassager, C., 2000, No major effect of estrogen receptor gene polymorphisms on bone mineral density or bone loss in postmenopausal Danish women, *Bone*, 26, 111-6 p.
5. Bandrés, E., Pombo, I., González-Huarriz, M., Rebollo, A., López, G., García-Foncillas, J., 2005, Association between bone mineral density and polymorphisms of the VDR, ER α , COL1A1 and CTR genes in Spanish post-menopausal women, *J. Endocrinol. Invest. Endocrinol Invest*, 28, 4, 312-2 p.
6. Baran, D.T., 2003, Çağdaş Tanı ve Tedavi Osteoporoz, Health Care Co., 1. baskı, Newtown, Pennsylvania, USA, 128 s.
7. Baron, R., 1993, Anatomy and ultrastructure of bone, In: MJ Favus (Ed.), Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism, Lippincott-Raven, Philadelphia, New York, 2nd Edition, 3-9 p.
8. Bernad, M., Martinez, M.E., Escalona, M., Gonza'lez, M.L., Gonza'lez, C., Garce's, M.V., Del Campo, M.T., Marti'n Mola, E., Madero', R., Carren'O', L., 2002, Polymorphism in the Type I Collagen (COL1A1) Gene and Risk of Fractures in Postmenopausal Women, *Bone*, 30,1, 223-228 p.
9. Bilezikian, J.P., 1999, Osteoporosis in men, *J Clin Endocrinol Metab*, 84, 3431-3434 p.
10. Brandi, M.L., Becherini, L., Gennari, L., et al, 1999, Association of the estrogen receptor alpha gene polymorphisms with sporadic Alzheimer's disease, *Biochem Biophys Res Commun*, 265, 335-8 p.
11. Burshell Alan, L., Smith Steven, R., 2001, Familial Osteoporosis; Marcus R., Feldman D., Kelsey J (Eds) Osteoporosis 2. Ed. Academic Press: San Diego, California, Vol 2, Chapter 25, 195-206 p.
12. Bustamante, M., Nogués, X., Enjuanes, A., Elosua, R., García-Giralt, N., Pérez-Edo, L., Cáceres, E., Carreras, R., Mellibovsky, L., Balcells, S., Díez-Pérez, A., Grinberg, D., 2007, COL1A1, ESR1, VDR and TGFB1 polymorphisms and haplotypes in relation to BMD in Spanish postmenopausal women, *Osteoporos Int*, 18, 235-243 p.
13. Byers, P.H. and Steiner, R.D., 1992, Osteogenesis imperfecta, *Annu Rev Med*, 43, 269-282 p.
14. Byers, P.H., 1993, In Royce, P.M. and Steinmann, B. (eds), *Connective Tissue and its Heritable Disorders: Molecular, Genetic and Medical Aspects*. Wiley Liss, New York, 317-350 p.
15. Carlos, J.L., Carneiro, J., Kelley, R.O., 1995, *Basic Histology, A Lange Medical Eighth Edition*, Appleton&Lange, USA, 132-151 p.
16. Chausmer, A.B., 2001, Bone density measurement techniques in the diagnosis and management of osteoporosis, *J S C Med Assoc*, 97, 3, 106-10 p.
17. Cheah, K.S., 1985, Collagen genes and inherited connective tissue disease, *Biochem J*, 229, 2, 287-303 p.
18. Chu, M.L. and Prockop, D.J., 1993, In Royce,P.M. and Steinmann, B. (eds), *Connective Tissue and its Heritable Disorders, Molecular, Genetic, and Medical Aspects*, Wiley-Liss, New York, 149-165 p.

19. Claustres M., 2004, Frequency and Nature of mutations, and the methods to detect them, 4th HUGO Mutation Detection Training Course, Course Booklet, Newcastle, UK, 6-21 p.
20. Consensus Development Conference: Diagnosis Prophylaxis and Treatment of Osteoporosis, 1993, *Am J Med*, 94, 646-650 p.
21. Dagleish, R., 1997, The Human Type I Collagen Mutation Database, *Nucleic Acids Res*, 25, 1, 181-187 p.
22. Dempster, D.W., 1995, Bone Remodeling, In: Riggs B.L., Melton L.J. (Eds): *Osteoporosis*, Lippincot-Raven, Philadelphia, 67-92 p.
23. Deroo, B. J. and Korach, K.S., 2006, Estrogen receptors and human disease, *J Clin Invest*, 116, 3, 561-570 p.
24. Efstathiadou, Z., Kranas, V., Ioannidis, J.P.A., Georgiou, I., Tsatsoulis, A., 2001, The Sp1 COL1A1 Gene Polymorphism, and Not Vitamin D Receptor or Estrogen Receptor Gene Polymorphisms, Determines Bone Mineral Density in Postmenopausal Greek Women, *Osteoporos Int*, 12, 326-331 p.
25. Einhorn, T.A., 1996, The bone organ system: form and function, In: Marcus R, Feldman D, Kelsey J, eds. *Osteoporosis*, San Diego, CA: Academic Press, Inc, 3-22 p.
26. Freedman, L.P., Luisi, B.F., Korszun, Z.R., Basavappa, R., Sigler, P.B., Yamamoto, K.R., 1988, The function and structure of the metal coordination sites within the glucocorticoid receptor DNA binding domain, *Nature*, 334, 6182, 543-6 p.
27. Ganong, W.F., 2003, *Review of Medical Physiology*, 21st Edition, McGraw-Hill Professional.
28. Gennari, L., Becherini, L., Falchetti, A., Masi, L., Massart, F., Brandi, M.L., 2002, Genetics of osteoporosis: role of steroid hormone receptor gene polymorphisms, *J Steroid Biochem Mol Biol*, 81 p.
29. Gennari, L., Merlotti, D., De Paola, V., Calabrò, A., Becherini, L., Martini, G., Nuti, R., 2005, Estrogen Receptor Gene Polymorphisms and the Genetics of Osteoporosis: A HuGE Review, *Am J Epidemiol*, 161, 307-320 p.
30. Gökçe-Kutsal, Y., 2000, Osteoporoz, In: Beyazova M., Gökçe-Kutsal Y., Eds, *Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon*, Güneş Kitabevi Ltd. Şti., Ankara, 1872-1893 s.
31. Grant, S.F.A., Reid, D.M., Blake, G., Herd, R., Fogelman, I., Ralston, S.T., 1996, Reduced bone density and osteoporosis associated with a polymorphic Sp1 binding site in the collagen type Ia1 gene, *Nature Genet*, 14, 203-5 p.
32. Green, S., Walter, P., Kumar, V., Krust, A., Bornert, J.M., Argos, P., Chambon, P., 1986, Human estrogen receptor cDNA: sequence, expression and homology to v-erbA, *Nature*, 320, 134-139 p.
33. Guyton, A.C., Hall, J.E., 2005, *Guyton & Hall Textbook Of Medical Physiology*, 11th Edition, Saunders/Elsevier.
34. Han, K.O., Moon, I.G., Hwang, C.S., Choi, J.T., Yoon, H.K., Min, H.K., et al 1999, Lack of intronic Sp1 binding-site polymorphism at the collagen type Ia1 gene in healthy Korean women, *Bone*, 24, 135-7 p.
35. Han, K., Choi, J., Moon, I., Yoon, H., Han, I., Min, H., Kim, Y., Choi, Y., 1999, Non-association of estrogen receptor genotypes with bone mineral density and bone turnover in Korean pre-, peri-, and postmenopausal women, *Osteoporos Int*, 9, 4, 290-5 p.
36. Hatemi, H., 2000, Osteoporozun Etyopatolojisi ve Sekonder Osteoporozlar, In: Göksoy T., Ed, *Osteoporozda Tanı ve Tedavi, Özlem Grafik Matbaacılık*, İstanbul, 23 s.
37. Heegaard, A., Jorgensen, H.L., Vestergaard, A.W., Hassager, C., Ralston, S.H., 2000, Lack of influence of collagen type Ia1 Sp1 binding site polymorphism on the rate of bone loss in a cohort of postmenopausal Danish women followed for 18 years, *Calcif Tissue Int*, 66, 409-413 p.
38. Higuchi, R., Fockler, C., Dollinger, G., Watson, R., 1993, Kinetic PCR analysis: real-time monitoring of DNA amplification reactions, *Biotechnology*, 11, 1026-1030 p.

39. Hosoi, T., Miyao, M., Inoue, S., Hoshino, S., Shirake, M., Orimo, H., Ouchi, Y., 1999, Association study of parathyroid hormone gene polymorphism and bone mineral density in Japanese postmenopausal women, *Calcif Tissue Int*, 205–208 p.
40. Hubacek, J.A., Weichetova, M., Bohuslavova, R., Skodova, Z., Stepan, J.J., Adamkova, V., 2006, No Associations Between Genetic Polymorphisms Of TGF β , PaI-1, and COL1A1, and Bone Mineral Density In Caucasian Females, *Endoc Reg*, 40, 107-112 p.
41. Huckaby, C.S., Conneely, O.M., Beattie, W.G., Dobson, A.D.W., Tsai, M.J., O'Malley, B.W., 1987, Structure of the chromosomal chicken progesterone receptor gene, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 84, 23, 8380-4 p.
42. Hustmayer, F.G., Liu, G., Johnston, C.C., Christian, J., Peacock, M., 1999, Polymorphism at an Sp1 binding site of COL1A1 and bone mineral density in premenopausal female twins and elderly fracture patients, *Osteoporos Int*, 9, 346–50 p.
43. Jakimiuk, A.J., Nowicka, M., Bogusiewicz, M., Adamiak, A., Skorupski, P., Miotla, P., Rechberger, T., Haczyński, J., 2007, Prevalence of estrogen receptor α PvuII and XbaI polymorphism in population of Polish postmenopausal women, *Folia Histochemica Et Cytobiologica*, 45, 4, 331-338 p.
44. Kanis, J.A. and Delmas, P., 1997, Guidelines for Diagnosis and management of Osteoporosis, *Osteoporosis Int*, 7, 390-406 p.
45. Kavuncu, V., 2000, Osteoporozda Tanı ve Tedavi, In: Göksoy T., Ed, Osteoporozda Sınıflama, Özlem Grafik Matbaacılık, İstanbul, 205-213 s.
46. Keen, R.W., Woodford-Richens, K.L., Grant, S.F., Ralston, S.H., Lanchbury, J.S., Spector, T.D., 1999, Association of polymorphism at the type I collagen (COL1A1) locus with reduced bone mineral density, increased fracture risk, and increased collagen turnover, *Arthritis Rheum*, 42, 285–290 p.
47. Kısaayak, F., 2004, Obez Postmenopozal Bayanlarda Vitamin D Reseptör Gen Polimorfizmi İle Kemik Mineral Dansitesi Arasındaki İlişki, Yüksek Lisans Tezi, ESOGÜ, Sağlık Bilimleri Enst., 71s.
48. Klinge, C.M., 2001, Estrogen receptor interaction with estrogen response elements, *Nucleic Acids Res*, 29, 2905-2919 p.
49. Kobayashi, S., Inoue, S., Hosoi, T., Ouchi, Y., Shiraki, M., Orimo, H., 1996, Association of bone mineral density with polymorphism of the estrogen receptor gene, *J Bone Miner Res*, 3, 306-11 p.
50. Kobayashi, N., Fujino, T., Shirogane, T., Furuta, I., Kobamatsu, Y., Yaegashi, M., Sakuragi, N., Fujimoto, S., 2002, Estrogen receptor polymorphism as a genetic marker for bone loss, vertebral fractures and susceptibility to estrogen, *Maturitas*, 41, 3, 193-201 p.
51. Körkkö, J., Ala-Kokko, L., De Paepe, A., Nuytinck, L., Earley, J., Prockop, D.J., 1998, Analysis of the COL1A1 and COL1A2 genes by PCR amplification and scanning by conformation-sensitive gel electrophoresis identifies only COL1A1 mutations in 15 patients with osteogenesis imperfecta type I: identification of common sequences of null-allele mutations, *Am J Hum Genet*, 62, 98-110 p.
52. Kuiper, G.G., Enmark, E., Peltö-Huikko, M., Nilsson, S., Gustafsson, J-A., 1996, Cloning of a novel estrogen receptor expressed in rat prostate and ovary, *Proc Natl Acad Sci USA*, 93, 5925–5930 p.
53. Kuiper, G.G., Carlsson, B., Grandien, K., Enmark, E., Haggblad, J., Nilsson, S., Gustafsson, J-A., 1997, Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors α and β , *Endocrinology*, 3, 863–870 p.
54. Kuiper, G.G. and Gustafsson, J.A., 1997, The novel estrogen receptor-beta subtype: potential role in the cell- and promoter-specific actions of estrogens and anti-estrogens, *FEBS Lett*, 410, 87–90 p.

55. Kuiper, G.G., Shughrue, P.J., Merchenthaler, I., Gustafsson, J.A., 1998, The estrogen receptor beta subtype: a novel mediator of estrogen action in neuroendocrine systems, *Front Neuroendocrinol*, 19, 4, 253-86 p.
56. Kumar, V., Green, S., Staub, A., Chambon, P., 1986, Localisation of the oestradiol-binding and putative DNA-binding domains of the human oestrogen receptor, *EMBO J*, 5, 9, 2231–2236 p.
57. Kumar, V., Green, S., Stack, G., Berry, M., Jin, J-R., Chambon, P., 1987, Functional domains of the human estrogen receptor, *Cell*, 51, 941-951 p.
58. Kung, A.W.C. and Huang, Q-Y., 2007, Genetic and Environmental Determinants of Osteoporosis, *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 7, 1, 26-32 p.
59. Kuran, B., 1998, Postmenopozal Osteoporozda Risk Faktörleri, *Osteoporoz Dünyasından*, 4, 585-590 s.
60. Lane NE., 2001, An update on glucocorticoid-induced osteoporosis, *Rheum Dis Clin North Am*, 27, 1, 235-53 p.
61. Lau, E.M.C., Choy, D.T.K., Li, M., Woo, J., Chung, T., Shami A., 2004, The Relationship Between COL1A1 Polymorphisms (Sp 1) and COL1A2 Polymorphisms (Eco R1 and Puv II) with Bone Mineral Density in Chinese Men and Women, *Calcif Tissue Int*, 75,133–7 p.
62. Lian, J.B. and Gundberg, C.M., 1988, Osteocalcin. Biochemical considerations and clinical applications, *Clin Orthop Relat Res*, 226, 267-91 p.
63. Liden, M., Wilen, B., Ljunghall, S., Melhus, H., 1998, Polymorphism at the Sp1 binding site in the collagen type I alpha1 gene does not predict bone density in postmenopausal women in Sweden, *Calcif Tissue Int*, 63, 293-295 p.
64. Lohmann S., Lehmann L., Tabiti K., 2000, Fast and Flexible Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Detection with the LightCycler System Roche Molecular Biochemicals, Penzberg, Germany, *Biochemica* no 4
65. Mann, V., Hobson, E.E., Li, B., et al, 2001, A COL1A1 Sp1 binding site polymorphism predisposes to osteoporotic fracture by affecting bone density and quality, *J Clin Invest*, 107, 7, 899–907 p.
66. Marcus, R., Feldman, D., Kelsey, J. (Eds), 1996, *Osteoporosis*, Academic Pres, / Preface.
67. Marini, J.C., Forlino, A., Cabral, W.A., Barnes, A.M., San Antonio, J.D., Milgrom, S., Hyland, J.C., Körkkö, J., Prockop, D. J., De Paepe, A., et al, 2007, Consortium for Osteogenesis Imperfecta Mutations in the Helical Domain of Type I Collagen: Regions Rich in Lethal Mutations Align With Collagen Binding Sites for Integrins and Proteoglycans, *Hum Mut*, 28, 3, 209-221 p.
68. Massart, F., Reginster, J.Y., Brandi, M.L., 2001, Genetics of menopause associated diseases, *Maturitas*, 40, 103–16 p.
69. Miller, P.D., Bonnick, S.L., Rosen, C.J., Altman, R.D., Avioli, L.V., Dequeker, J., Felsenberg, D., Genant, H.K., Gennari, C., Harper, K.D., et al, 1996, Clinical utility of bone mass measurements in adults: consensus of an international panel, *The Society for Clinical Densitometry. Semin Arthritis Rheum*, 25, 6, 361-72 p.
70. Mitra, S., Desai, M., Khatkhatay, M.I., 2006, Association of estrogen receptor a gene polymorphisms with bone mineral density in postmenopausal Indian women, *Mol Genet and Metab*, 87, 80–87 p.
71. Nakajima, T., Ota, N., Shirai, Y., Hata, A., Yoshida, H., Suzuki, T., et al, 1999, Ethnic difference in contribution of Sp1 site variation of COL1A 1 gene in genetic predisposition to osteoporosis, *Calcif Tissue Int*, 65, 352–3 p.
72. Nas, K. ve Çevik R., 2000, Osteoporozda Risk Faktörleri, In: Göksoy T., Ed, *Osteoporozda Tanı ve Tedavi, Özlem Grafik Matbaacılık, İstanbul*, 69-94 s.

73. Nussbaum, R.L., McInnes, R.R., Willard, H.F., Boerkoel III, C.F., 2005, Thompson & Thompson Tıbbi Genetik, 6. Baskı, Güneş Kitabevi Ltd. Şti., Saunders.
74. Osborne, C.K., Zhao, H.H., Fuqua, S.A.W., 2000, Selective Estrogen Receptor Modulators: Structure, Function, and Clinical Use, *J Clin Oncol*, 18, 3172-3186 p.
75. Ota, M., Fukushima, H., Kulski, J.K., Inoko, H., 2007, Single nucleotide polymorphism detection by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, *Nat Protoc*, 2(11), 2857-64 p.
76. Pacifici, R., 1996, Estrogen, cytokines, and pathogenesis of postmenopausal osteoporosis, *J Bone Miner Res*, 11, 8, 1043-51 p.
77. Passarge, E., Renkli Genetik Atlası, 2000, (Çev.: Lüleci, G., Sakızlı, M., Alper, Ö.), Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti, İstanbul.
78. Ponglikitmongkol, M., Green, S., Chambon, P., 1988, Genomic organization of the human oestrogen receptor gene, *EMBO J*, 7, 11, 3385-8 p.
79. Pryor, R.J., Wittwer, C. T. , 2006, Real-time polymerase chain reaction and melting curve analysis, *Methods Mol Biol*, 336, 19-32p.
80. Roche Applied Science, Technical Note, No. LC 18/2004
81. Royce, P.M. and Steinmann B. (Eds), 2002, Connective Tissue and Its Heritable Disorders: Molecular, Genetic, and Medical Aspects, Chu M-L., Prockop D. J.: Collagen: Gene Structure, Wiley-Liss, Inc., 2nd Edition, 223-248 p.
82. Salmén, T., Heikkinen, A.M., Mahonen, A., Kröger, H., Komulainen, M., Saarikoski, S., Honkanen, R., Mäenpää, P.H., 2000, Early postmenopausal bone loss is associated with PvuII estrogen receptor gene polymorphism in Finnish women: effect of hormone replacement therapy, *J Bone Miner Res*, 15, 2, 315-21 p.
83. Sarıdoğan M.Y., 2004, Genetik Etmenler, In: Kutsal G.Y., Ed, Osteoporozda Kemik Kalitesi, Güneş Kitabevi Ltd. Şti., Ankara, 144 s.
84. Schaffer, M.B., 1998, Kemik Kalitesi ve Mekanik Fonksiyon. In: Bilimsel Bilgiler (Kemik Bütünlüğü, Kemik Kalitesi, Kemik Dansitesi). Ceasar Park Hotel, Sıntra, Portekiz, 10-11 s.
85. Solak, M. (Ed.), Şengil, A. Z., Öztaş, S., Bağcı H., 2000, Moleküler Genetik ve Rekombinant DNA Teknolojisi (Temel bilgiler) Afyon Kocatepe Üniversitesi Eğitim Sağlık ve Bilimsel Araştırmalar Vakfı Yayınları, No: 5, Afyon.
86. Şahin, A.O., 1999, Kadınlarda Postmenopozal Dönemdeki Kemik Mineral Yoğunluğu İle Farklı Kollajen Tip I α 1 Genotipleri Arasındaki İlişki, Uzmanlık Tezi, Gazi Üniv., Tıp Fak., 94 s.
87. Şatana, T., Sarban, S., Herseksi, M. A., 1998, Osteoporoz, Meteksan A.Ş.A, Ankara.
88. Tanakol, R., 2004, Fiziopatolojik Etmenler. In: Gökçe-Kutsal Y., Ed, Osteoporozda Kemik Kalitesi, Güneş Kitabevi Ltd. Şti., Ankara, 3-70 s.
89. Tempfer, C.B., Schneeberger, C., Huber, J.C., 2004, Applications of polymorphisms and pharmacogenomics in obstetrics and gynecology, *Pharmacogenomics*, 5, 57-65 p.
90. Tezcan, S., Subaşı, N., Altıntaş, H., 2002, Ankara'nın İki Bölgesindeki 40 Yaş ve Üzeri Kadınlar ile Bazı Okullardaki Kadın Öğretmenlerde Osteoporoz Bilgi Düzeyi ve Risk Faktörü Sıklığı, *Osteoporoz Dünyasından*, 8, 4, 161-168 s.
91. Uitterlinden, A.G., Burger, H., Huang, Q., et al, 1998, Relation of alleles of the collagen type I α 1 gene to bone density and the risk of osteoporotic fractures in postmenopausal women, *N Engl J Med*, 338, 1016-21 p.
92. Uitterlinden, A.G., Van Leuwen, J.P.T.M., Pols, H.A., 2001, Genetics and Genomics of Osteoporosis; Marcus R., Feldman D., Kelsey J (Eds) Osteoporosis 2. Ed. Academic Press: San Diego, California, Vol 1, Chapter 26, 639-667 p.

93. Valasek, M. A., Repa, J. J., 2005, The power of real-time PCR *Adv Physiol Educ* 29, 151–159 p.
 94. WHO, 1994, Assessment of Osteoporotic Fracture Risk and Its Role in Screening for Postmenopausal Osteoporosis, WHO Technical Report Series 843, Geneva.
 95. Yurtsever, Z., 2003, Osteoporoz İle İlgili Bazı Genetik Polimorfizmlerin Türk Toplumunda Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniv., Fen Bilimleri Enst., 61 s.
 96. Zahraoui, A., Cuny, G., 1987, Nucleotide sequence of the chicken proto-oncogene c-erbA corresponding to domain 1 of v-erbA, *Eur J Biochem*, 166, 1, 63-9 p.
 97. Zajickova, K. and Zofkova, I., Hill, M., 2002, Is the Sp1 polymorphism in the COL1A1 gene a risk factor for postmenopausal osteoporosis? Comment on the article by Keen et al, *Arthritis and Rheum*, 46, 10, 2828–2829 p.
 98. Zajickova, K. and Zofkova, I., 2003, Osteoporosis: genetic analysis of multifactorial disease, *Endocr Regul*, 37, 1, 31-44 p.
 99. Zhang, Y.Y., Long, J.R., Liu, P.Y., Liu, Y.J., Shen, H., Zhao, L.J., Deng, H.W., 2003, Estrogen receptor alpha and vitamin D receptor gene polymorphisms and bone mineral density: association study of healthy pre- and postmenopausal Chinese women, *Biochem Biophys Res Commun*, 308, 4, 777-83.
100. <http://herkules.oulu.fi/isbn951427718X/>.
101. <http://www.mustafaaltinisik.org.uk>.
102. <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=COL1A1&search=COL1A1>

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Müjgan (ÖZDEMİR) ERDOĞAN
Unvanı : Öğr. Grv.
Lisans : İstanbul Üniv. Tıp Fak. Tıbbi Biyolojik Bil. Böl., 1998.
Yabancı Dil : İngilizce
E-Mail Adresi : mjgnzdmr1977@yahoo.com
Üyelikleri : Tıbbi Genetik Derneği
Tıbbi Biyoloji Derneği

ÖĞRENİM DURUMU

Yüksek Lisans : Osmangazi Üniv., Sağlık Bil. Enst., Tıbbi Biyoloji AD., 2001.
Yüksek Lisans Tezi : Lösemili Olgularda Telomeraz Enzim Aktivitesi
(Danışman: Prof. Dr. Hasan V. GÜNEŞ)

YAYINLAR

Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayınlanan Makaleler

1. Evirgen N., Solak M., Dereköy S., **Erdoğan M.**, Yıldız H., Eser B., Arıkan S., Erkoç A.: "Genotyping for *Cx26* And *Cx30* Mutations in Cases with Congenital Hearing Loss", *Genetic Testing*, 12 (2):253-256, 2008.
2. Solak M., Yıldız H., Köken R., **Erdogan Ö. M.**, Eser B., Şen T., Evirgen N., Erdem S., Arıkan E.: "Analysis of Familial Mediterranean Fever Gene Mutations in 202 Patients with Familial Mediterranean Fever", *Genetic Testing*, 12(3): 341-344, 2008.
3. Solak M., Yıldız H., Köken R., **Erdogan Ö. M.**, Eser B., Şen T., Evirgen N., Erdem S.: "Analysis of MEFV Gene Mutations in 165 Patients Formerly Diagnosed as Familial Mediterranean Fever" *Turkiye Klinikleri J Med Sci* 28:117-122, 2008.
4. Çam F.S., Gül D., Tunca Y., Fıstık T., **Erdoğan Ö. M.**, Yıldız H., Erdem S., Solak M.: "Analysis of The Dermatoglyphics in Turkish Patients with Klinefelter's Syndrome", *Hereditas*, 145(4): 163-166, 2008.

Ulusal Hakemli Dergilerde Yayınlanan Makaleler

1. Altındış M., **Özdemir M.**: Helicobacter pylori ve Tanısı. *Kocatepe Tıp Derg.*, 2:1-12, 2003.
2. Altındış M., **Özdemir M.**: Bir Bakteri Belirleyicisi : Prokalsitonin. *İnf. Derg.*, 17 (2): 251 – 257, 2003.
3. Altındış M., Aktepe O.C., Çetinkaya Z., **Özdemir M.**: Afyon Bölgesi Farklı Risk Gruplarında TT Virus ve Hepatit G Virus Araştırılması. *Mikrobiyol. Bült.*, 38:61-67, 2004.

4. **Özdemir, M.**, Güneş, H.V., Başaran, A., Değirmenci, İ., Solak, M., Coşan, D. “KLL ve AML’li Hastalarda Telomeraz Enzim Aktivitesinin Tayini” *Kocatepe Tıp Derg.*, 5:25-28, 2004.
5. Solak M., Fıstık T., Eser B., Söylemez Z., Yıldız H., **Erdoğan Ö. M.**, Çağlayan S., Yüksel E., Şamlı H., Erdem S.: “Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Tıbbi Genetik Laboratuvarı’nda Sitogenetik Analizler”, *Osmangazi Tıp Derg.*, 29(2):93-99, 2007.
6. Solak M., Fıstık T., **Erdoğan Ö. M.**, Yıldız H., Eser B.: “Non- Obstruktif Azoospermik Erkeklerde 3/21 Translokasyonu İle 9 İnvazyonu Birlikteliği” *Osmangazi Tıp Dergisi*, 30(1):34-39, 2008.
7. Solak M., Güler C., Eser B., Fıstık T., **Erdoğan Ö. M.**, Yıldız H., Söylemez Z.: “Klinefelter Sendromlu Beş Olguda Sitogenetik ve Moleküler Analizler” *Osmangazi Tıp Dergisi*, (Basımda), 2008.

Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitabında Basılan Bildiriler

1. Altındış M., Aktepe O.C., Çetinkaya Z., **Özdemir M.**: “Seropositivity and Genotypic Analysis of Hepatitis C Viruses in Afyon, Turkey”, *6th Annual Meeting of the European Society for Clinical Virology, Clinical Virology*, Vol.27, Suppl 1, S.54, August, Lyon-France, 2003.
2. **Özdemir, M.**, Güneş, H.V., Başaran, A., Değirmenci, İ., Solak, M., Coşan, D “The Importance of The Detection of Telomerase Activity in Patients with Chronic Lymphocytic and Acute Myeloblastic Leukemia: Our First Results ”, *European Human Genetics Conference, European J. of Human Genetics*, Vol 12, Suppl 1, S.178, June Munich- Germany, 2004.
3. Solak M., Fıstık T., Eser B., Söylemez Z., Yıldız H., **Erdoğan Ö. M.**, Çağlayan S., Yüksel E., Şamlı H., Şimşek S.: “Cytogenetic Analyses in Medical Biology Department in Afyonkarahisar Kocatepe University” *6th European Cytogenetics Conference*, 07-10 July İstanbul, 2007. Final Programme and Abstracts books, İstanbul, July 07 – 10, 2007, *Chromosome Research*, Vol 15, Number 1, S.116, 2007.
4. Evirgen N., Dereköy FS., Eser B., **Erdoğan MÖ.**, Yıldız H., Solak M.: “Genotyping for Cx26 and Cx30 Gene Mutations in the Cases with Congenital Hearing Loss”, *6th. European Congress of Oto-Rhino-Laryngology, Head and Neck Surgery*, June 30-July 4, Vienna, Austria, 2007. Final Programme and Abstracts books, June 30-July 4, Vienna, Austria, 2007. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, Suppl 1, Vol.264, S.233, 2007.

Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitabında Basılan Bildiriler

1. **Özdemir, M.**, Güneş, H.V., Başaran, A., Değirmenci, İ., Coşan, D., Durak, B., Başaran, N.:“Kronik Lenfositik ve Akut Myeloblastik Lösemili Hastalarda Telomeraz Enzim Aktivitesinin Tayini” *7. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi*, Kongre Özet Kitabı, S.68, 18-21 Eylül, Eskişehir, 2001 (Sözlü Bildiri).
2. Altındış M., Aktepe O.C., Çetinkaya Z., **Özdemir M.**: “Afyon Bölgesi Farklı Risk Gruplarında TT Virus ve Hepatit G Virus Araştırılması”, *VI. Ulusal Viral Hepatit Simpozyumu*, Simpozyum Program ve Özet Kitabı, P-98, 31 Ekim – 2 Kasım, Ankara, 2002.

3. Eser B., Fıstık T., Yıldız H., **Erdoğan M.**, Şamlı H., Solak M.: “48,XXY,+21 Karyotipli Bir Olgu”, 2. *Ege Genetik Sempozyumu*, Sempozyum Özet Kitabı, S.63-64, 24 Kasım, Afyonkarahisar, 2006.
4. Evirgen N., Solak M., Dereköy S., **Erdoğan M.**, Eser B., Yıldız H., Erkoç A., Arıkan S.: “Genotyping for Cx26 and Cx30 Gene Mutations in The Cases with Congenital Hearing Loss”, *II. Ulusal Moleküler Tıp Kongresi*, Kongre Özet Kitabı, S.289, 24-26 Mart, İstanbul, 2007.
5. Eser O, **Erdoğan M.**, Cosar E., Yıldız H., Koken R., Eser E., Büyükbas S., Solak M: “The C677T Polymorphism of the Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene and Folic Acid, Vitamin B₁₂, Homocysteine Levels in Turkish Children with Neural-Tube Defects: A Case-Control Study”, *II. Ulusal Moleküler Tıp Kongresi*, Kongre Özet Kitabı, S.290, 24-26 Mart, İstanbul, 2007.
6. Eser O, Yıldız H., Cosar E., Eser B., **Erdoğan M.**, Kocabaş V., Aslan A., Solak M: “Metabolic Effects of A1298C Polymorphism of Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene in Turkish Children with Neural-Tube Defects: A Case-Control Study”, *II. Ulusal Moleküler Tıp Kongresi*, Kongre Özet Kitabı, S.290, 24-26 Mart, İstanbul, 2007.
7. Cosar M., Eser B., Eser O, Aslan A., Boyacı G., **Erdoğan M.**, Yıldız H., Büyükbas S., Solak M: “Spina Bifidalı Hastalarda Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) Geninin C677T ve A1298C Polimorfizmlerinin Analizi ve Biyokimyasal Parametrelerinin Değerlendirilmesi”, *Türk Nöroşirürji Derneği, XXI. Bilimsel Kongresi*, Türk Nöroşirürji Dergisi Cilt:17 Ek Sayı, S.175, 20- 24 Nisan, Antalya, 2007.
8. Solak M., Yıldız H., **Erdoğan Ö. M.**, Köken R., Eser B., Evirgen N.: “Ailevi Akdeniz Ateşi Ön Tanısı İle Başvuran 202 Olgunun MEFV Geni Mutasyonlarının İncelenmesi” *X. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi*, Bildiri Kitabı, P 99, 6-9 Eylül, Belek-Antalya, 2007.
9. Solak M., Fıstık T., **Erdoğan Ö. M.**, Yıldız H., Eser B.: “Non- Obstruktif Azoospermik Erkeklerde 3/21 Translokasyonu İle 9 İnversiyonu Birlikteliği” *X. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi*, Bildiri Kitabı, P 122, 6-9 Eylül, Belek-Antalya, 2007.
10. Coşar M., **Erdoğan M.**, Eser O., Eser B., Aslan A., Yıldız H., Korkmaz S., Yavaş G.F., Solak M.: “Psödötümör Serebri Hastalarının C677T MTHFR, A1298C MTHFR ve Faktör V Leiden Gen Polimorfizmlerinin Analizi” *Türk Nöroşirürji Derneği XXI. Bilimsel Kongresi*, 18-22 Nisan 2008, Antalya, Türk Nöroşirürji Derg, Cilt: 18, Ek sayı, s.184, 2008.

ULUSLARARASI KONGRE, PANEL, KONFERANS KATILIMLARI

1. European Human Genetics Conference, Munich, Germany, June 12 - 15, 2004.

ULUSAL KONGRE, PANEL, KONFERANS KATILIMLARI

1. Deneysel Araştırma “Workshop”u, Kayseri,19-20 Mayıs 1999.
2. VI. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi, Denizli 2-5 Kasım 2000.
3. VII. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi, Eskişehir, 18-21 Eylül 2001.
4. I. Ulusal Tamda Moleküler Genetik Kongresi, Adana, 18-22 Nisan 2002.

5. VI. Ulusal Prenatal Tanı ve Tıbbi Genetik Kongresi, Antalya, 21-24 Nisan, 2004.
6. I. Ulusal Moleküler Tıp Kongresi, Hilton Convention Center-İstanbul, 16-19 Nisan 2005.
7. I. Ege Genetik Sempozyumu, Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi-İzmir, 15 Kasım, 2005.
8. Türk İmmünoloji Derneği Bölge Toplantıları IV, Afyon Kocatepe Üniversitesi, 25-26 Kasım, 2005.
9. 2. Ege Genetik Sempozyumu, İkbal Termal Otel – Afyonkarahisar, 24 Kasım, 2006.
10. II. Ulusal Moleküler Tıp Kongresi, İstanbul, 24-26 Mart 2007.
11. X. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi, Belek-Antalya, 6-9 Eylül 2007.
12. 4. Ulusal Tıbbi Genetik Sempozyumu, 1. Nörogenetik Sempozyumu, Dokuz Eylül Üniversitesi –İzmir, 4-6 Kasım 2007.

BİLİMSEL KURS VE SEMİNER KATILIMLARI

1. Embriyo Manuplasyonu ve Temel Hücre Kültür Teknikleri Kursu, *I. Ulusal Klinik Pratikte Kök Hücre ve Gen Tedavisi Kongresi*, 07-09 Mayıs 2004, İstanbul.
2. Application of Realtime PCR Course, *II Ulusal Moleküler Tıp Kongresi*, 24-26 Mart 2007, İstanbul.

PROJELERDE YAPTIĞI GÖREVLER

1. Üriner Sistem EnfeksiyonlarınınAyrımında Prokalsitonin (PCT) ve C-Reaktif Protein (CRP) Düzeylerinin Önemi, AKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu (02.TIPF.03), Proje Yürütücüsü, 2002-2003.
2. Nöral tüp defektli olgularda MTHFR geninde C677T ve A1298C mutasyonlarının analizi, AKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu (051.TIP.40), Yardımcı Araştırmacı, 2005-2007.
3. Dejeneratif Disk Hernili hastalarda Aggrecan Gen Polimorfizminin araştırılması, AKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu (051.TIP.44), Yardımcı Araştırmacı, 2005- 2007.
4. Hafif Kognitif Bozukluk veya Alzheimer'lı Olgular ve Aterosklerozlu Olgularda Apolipoprotein E Polimorfizminin ve Protein Profillerinin Araştırılması, AKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu (051.TIP.06), Yardımcı Araştırmacı, 2005-.
5. Vitamin D Reseptör *ApaI* polimorfizm ve Osteoporoz İlişkisi, AKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu (051.TIP.07), Yardımcı Araştırmacı, 2005-.
6. Alzheimerli Olgularda İnterlökin -1 Alfa Geni C(-889)T Polimorfizmi Genotipleme Çalışması, AKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu (06.TIP.25), Yardımcı Araştırmacı, 2006-.
7. Dejeneratif Disk Hernili Hastalarda Vitamin D Reseptör Gen ve Aggrecan Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması, AKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu (06.TIP.27), Yardımcı Araştırmacı, 2006-.

8. Östrojen Reseptör Alfa Geni ve COLIA1 Genleri Polimorfizmleri ile Osteoporoz İlişkisinin Araştırılması, AKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu (06.TIP.28), Yardımcı Araştırmacı, 2006-

ÖDÜLLER

1. **Özdemir, M.**, Güneş, H.V., Başaran, A., Değirmenci, İ., Coşan, D., Durak, B., Başaran, N.:“Kronik Lenfositik ve Akut Myeloblastik Lösemili Hastalarda Telomerez Enzim Aktivitesinin Tayini” 7. *Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi*, 18-21 Eylül, Eskişehir, 2001 (Poster Teşvik Ödülü).
2. **Özdemir, M.**, Güneş, H.V., Başaran, A., Değirmenci, İ., Solak, M., Coşan, D “The Importance of The Detection of Telomerase Activity in Patients with Chronic Lymphocytic and Acute Myeloblastic Leukemia: Our First Results ”, *European Human Genetics Conference, European J. of Human Genetics*, Vol 12, Suppl 1, S.178, June Munich- Germany, 2004 (Poster Teşvik Ödülü).

RUTİN TETKİK HİZMETLERİNE KATILIM

Ocak 2006 –Nisan 2007 Dönemi Rutin Moleküler Genetik Tetkikleri (Bu döneme ilişkin **PCR-RFLP**, **PCR-ELISA**, **VNTR** ve **Real-Time PCR** yöntemleriyle yapılan **476 tetkikte** fiilen **tetkik ve ünite sorumlusu** olarak görev almıştır).

DİĞER ETKİNLİKLER

1. Solak M., Ovalı H.F., Aktepe F., Dereköy F.S., **Özdemir M.**, Yıldız H., Yeşilçay Y.: “Eğiticilerin Eğitimi Kursu Eğitimde Ölçme ve Değerlendirme Rehberi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi-Afyon, 2004.
2. Ege Genetik Sempozyumu, 24 Kasım, Afyonkarahisar, 2006 (Düzenleme Kurulu Üyesi)